

LYMPHOZYTENANTIGENE BEIM RIND UND EUTERGESUNDHEIT

Susanne Gloger-Höck

Disbui, München

1988



Digitized by the Internet Archive
in 2026

awi-druck
Dissertations-Druck
Müllerstraße 22 · München 5
Telefon 260 40 05

Aus dem Institut für Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c.mult.A.Mayr
und dem Institut für
Blutgruppenforschung- und Immunbiologie der
Tierzuchtforschung e.V. München Grub
(Wissenschaftliche Leitung: Prof.Dr.Dr.h.c.mult.A.Mayr)
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof.Dr.D.O.Schmid

LYMPHOZYTENANTIGENE BEIM RIND UND EUTERGESUNDHEIT

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität
München

von

Susanne Gloger-Höck
aus Nürnberg

München 1988

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. D.O. Schmid

Korreferent: Prof. Dr. K. Walser

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

Günter und meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
2.	Literaturübersicht.....	3
2.1.	Das Haupthistokompatibilitätssystem (MHC).....	3
2.1.1.	Genetischer Aufbau.....	3
2.1.2.	Molekulare Struktur der MHC Produkte.....	5
2.1.3.	Immunologische Bedeutung der MHC-Moleküle.....	5
2.2.	Der MHC beim Menschen und den einzelnen Tier- arten.....	7
2.2.1.	Mensch.....	7
2.2.2.	Maus.....	8
2.2.3.	Rind.....	8
2.3.	Der MHC und seine Beziehung zu Krankheiten.....	14
2.4.	Lymphozytenisolierung.....	21
2.5.	Methoden zum Nachweis von Lymphozytenantigenen..	23
2.5.1.	Mikrozytotoxizitätstest.....	23
3.	Eigene Untersuchungen.....	25
3.1.	Material und Methode.....	25
3.1.1.	Versuchsaufbau und Tiermaterial.....	25
3.1.2.	Lymphozytenisolierung.....	30
3.1.3.	Serologischer Nachweis der Lymphozytenantigene..	32
3.1.3.1.	Mikrozytotoxizitätstest.....	32
3.1.3.2.	Mikrotitration.....	35
3.1.3.3.	Antikörperfraktionierung durch Absorption.....	36
4.	Ergebnisse.....	38
4.1.	Lymphozytenantigene der Schwarzbunten Rinder....	38
4.2.	Beziehungen zwischen BoLA-Antigenen und der Eutergesundheit.....	46
4.3.	Auswertung der Nachkommengruppen.....	52
4.4.	Lymphozytenantigene der Fleckvieh und Braun- viehrinder.....	66
4.5.	Ergebnisse der Mastitisbefunde.....	73
4.6.	Zusammenhänge zwischen Mastitis und BoLA- Merkmalen.....	78
5.	Besprechung der Ergebnisse.....	84
6.	Zusammenfassung.....	97
7.	Summary.....	99
8.	Literaturverzeichnis.....	101

1. Einleitung

Das Haupthistokompatibilitätssystem besitzt herausragende immunologische Bedeutung. Keine andere Region im Genom beeinflusst gleichermaßen das Überleben des einzelnen Lebewesens, sowie das Überleben der gesamten Population. Um immunologische Selbstzerstörung zu vermeiden, muß das Immunsystem präzise zwischen "Selbst" und "Fremd" unterscheiden können.

Krankheitsanfälligkeit kann als ein Ergebnis des Gleichgewichtes zwischen Immunschutz und der krankheitsinduzierenden Noxe, bzw. dem infektiösen Agens angesehen werden. Diese Gleichgewichtslage wird wesentlich durch die Immunantworgene und damit durch die Histokompatibilitätsantigene des Individuums beeinflusst. Untersuchungen haben gezeigt, daß Antigene des Histokompatibilitätssystems mit verschiedenen immunologisch bedingten Erkrankungen in Verbindung gebracht werden können; d.h. daß bei Patienten mit diesen Krankheiten ein bestimmtes Histokompatibilitätsantigen oder eine Kombination dieser Antigene signifikant häufiger vorkommt, als bei gesunden Personen.

Auch beim Rind sind Zusammenhänge zwischen Histokompatibilitätsantigenen und bestimmten Erkrankungen beschrieben. Die erbliche Disposition von Mastitis ist in Beziehung zum Histokompatibilitätssystem des Rindes gebracht worden (SOLBU et al. 1982, MEYER et al. 1984, LARSEN et al. 1983, HINES et al. 1985, SCHMID et al. 1986, LEWIN et al. 1987, MADSEN et al. 1987, ODDGEIRSSON et al. 1987, SOLBU et al. 1987).

Die Resistenzzucht kann bei Haustieren möglicherweise von der immungenetischen Erforschung des Haupthistokompatibilitätssystem beeinflusst werden. Voraussetzung dafür ist allerdings die Markierung einer Disposition durch die, dieses System kontrollierenden Gene. Gleichzeitig mußte aber ausgeschlossen sein, daß diese Merkmale keine negativen Auswirkungen auf die erwünschten Merkmale haben.

2. Literaturübersicht

2.1. Das Haupthistokompatibilitätssystem (MHC)

2.1.1. Genetischer Aufbau

Der Lymphozyt hat eine zentrale Bedeutung in der immunologischen Reaktion. Die auf der Lymphozytenmembran vorhandenen MHC-Rezeptoren stehen unter genetischer Kontrolle. Die Genprodukte gehören zum Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex: MHC). Die Bezeichnung Transplantations- oder Histokompatibilitätsantigene erhielten die MHC-Produkte durch ihre maßgebenden Rolle bei der Abstoßung von Gewebstransplantaten. Alle Vertebratenspezies besitzen einen in seinem Aufbau sehr ähnlichen MHC (GÖTZE, 1977).

Beim MHC des Rindes, der als BoLA (Bovine Lymphocyte Antigen Locus) bezeichnet wird, handelt es sich um eines der genetischen Systeme mit den meisten Polymorphismen und Allelen die bei Vertebraten bekannt sind.

Die beteiligten Gene werden in drei Hauptklassen eingeteilt:

Klasse I besteht aus Genen, welche die Erkennung von zellgebundenen Fremdanthigenen durch die zytotoxischen T-Zellen steuern. Gleichzeitig kontrollieren diese Gene die Expression der Zielantigene in der Transplantationsreaktion. Klasse I-Antigene kommen in variabler Dichte auf nahezu allen kernhaltigen Zellen vor.



Die Klasse II Gene greifen durch ihre Produkte regulierend in die Immunantwort ein. Die Genprodukte begrenzen die T-Zellen in ihrer Fähigkeit eine zelluläre Immunantwort zu unterstützen oder zu unterdrücken.

Klasse II-Antigene kommen auf dendritischen Zellen, B-Lymphozyten, Makrophagen/Monozyten und aktivierten T-Lymphozyten vor. Sie sind auf anderen Zelltypen induzierbar, besonders unter dem Einfluß von Gamma-Interferon (MARQUARDT, 1987).

Bei den Klasse III Genen handelt es sich um Gene, die ganz bestimmte Komplementfaktoren in ihrer Expression kontrollieren. Die Produkte der Klasse III-Gene sind einzelne zentrale Komponenten des Komplementsystems im Plasma.

Die Gene des MHC liegen für den Menschen auf Chromosom 6 (LAMB et al., 1971), für die Maus auf Chromosom 17 (Klein, 1975), für das Schwein auf Chromosom sieben (RABIN et al., 1985) und für das Rind nimmt man an, daß die entsprechenden Gene sich auf Chromosom 23 befinden (FRIES et al., 1986). Dabei liegen die entsprechenden Gene jeweils auf dem kurzen Abschnitt des Chromosoms.

Die Vererbung der Gene erfolgt autosomal kodominant.

Da nun diese Gene so eng mit der Immunantwort verknüpft sind, bringt man ihnen im Bereich der Resistenzforschung besonderes Interesse entgegen.

2.1.2. Molekulare Struktur der MHC Produkte

Das Klasse I-Antigen ist ein Dimer aus zwei nicht kovalent assoziierten Polypeptiden. Die schwere glykosilierte Kette ist in der Membran verankert und trägt die polymorphen Determinanten. Die leichte, monomorphe Kette (β 2-Mikroglobulin) ist nicht in der Membran verankert und wird von einem Gen außerhalb des MHC kodiert (LEW, 1986).

Das Klasse II-Molekül ist ein Dimer aus zwei nicht kovalent assoziierten Glykopeptiden: α - und β -Kette. Beide in der Membran verankerte Ketten werden vom MHC kodiert. In Abhängigkeit von der Subregion können die α - und/oder die β -Kette Träger der polymorphen Determinante sein (GILES u. CAPRA, 1985).

Die Klasse III-Moleküle sind Proteine des Komplementsystems.

2.1.3. Immunologische Bedeutung der MHC-Moleküle

ZINKERNAGEL und DOHERTY (1979) zeigten, daß die Reaktion zwischen virusspezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten und einer virusinfizierten Zelle von den Klasse-I-Antigenen dieser Zelle abhängig ist. Der zelluläre Angriffspunkt den die zytotoxischen T-Lymphozyten in der virusinfizierten Zelle erkennen besteht aus zwei Teilen. Ein Teil stellt ein

virales Antigen dar, das zweite ist ein Klasse-I-Antigen. Klasse-I-Determinanten sind in den Funktionsablauf des effektiven Teil des Immunsystems integriert und im wesentlichen daran beteiligt das abzuwehrende Antigen den entsprechenden Effektorzellen zu präsentieren.

Klasse-II-Moleküle sind in den afferenten Teil des Immunsystems eingebunden und erfüllen eine Teilfunktion darin, daß sie an der Präsentation des Antigen gegenüber einer die Immunantwort spezifisch initiierenden T-Helferzelle mitwirken (LANZER 1986). Ein Teil des Antigen-Komplexes, der durch die T-Helferzellen erkannt wird, besteht aus Klasse-II-Antigenen. Die Interaktion von T-Helferzellen mit Makrophagen und B-Lymphozyten ist "Klasse-II-restringiert". Neben der Präsentation eines Fremdanogens muß gleichzeitig ein körpereigenes MHC-Antigen präsentiert werden, das die Zelle (T-Lymphozyt) über ihren MHC-Rezeptor erkennt (RÖLLINGER, 1986). Nur durch diese duale Erkennung wird die Bildung von spezifischen Effektorzellen (Plasmazellen, zytotoxische T-Lymphozyten) eingeleitet (ZINKERNAGEL und DOHERTY, 1974).

Weiter mit dem MHC verbundene immunologische Eigenschaften sind die Transplantatabstoßung, die Stimulation der Antikörperproduktion, die Stimulation der gemischten Lymphozytenreaktion, die Graft-versus-host Reaktion, die zellvermittelte Lympholyse und die Begrenzung der Immunantwort (SACHS, 1984).

2.2. Der MHC beim Menschen und den einzelnen Tierarten

2.2.1. Mensch

Anfang der 50er Jahre wurde der Grundstein für die heutigen Kenntnisse über das HLA-System (Human Leukozyte Antigen-System) gelegt. DAUSSET (1954) stellte fest, daß Seren polytransfundierter Patienten mitunter lymphozytenagglutinierende Inhaltsstoffe enthalten. Das erste Lymphzytenantigen Mac wurde von DAUSSET (1958) nachgewiesen.

VAN ROOD (1962) entdeckte den Genlocus 4. Im selben Jahr wurden auch serologische Hinweise auf ein drittes Gen gefunden (KISSMEYER-NIELSEN et al 1970, SANDBERG et al., 1970).

Klare Beweise für ein B-Zell Antigen System wurden von BODMER et al. (1978) erbracht. Diese Antigene sind als Homologe zu den Ia Antigenen des H-2 Komplex der Maus anzusehen.

Die Großbuchstaben A,B,C und D kennzeichnen die einzelnen Genorte innerhalb des HLA-Systems.

Die Großbuchstaben A,B und C bezeichnen die Loci der Klasse I Gene (SVEJGAARD et al., 1979).

Die bisher bekannten Allele des D-Locus sind mit serologischen oder zellularen Nachweismethoden bestimmbar. Sie liegen in der Klasse II Region.

2.2.2. Maus

Der Histokompatibilitätskomplex der Maus (H-2 Komplex) ist sehr eingehend untersucht worden. Erste Ergebnisse lieferten SNELL, (1968), IVANYI, (1970) und KLEIN, (1975).

Die Hauptregionen des H-2 Komplex sind der K,I,S,G und D Locus.

Für die Klasse I Gene sind bei der Maus drei Genorte bekannt (KLEIN et al., 1978).

Die I Region des H-2 Komplex der Maus besteht aus mehreren Subregionen A,B,J,E und C. Dieser Abschnitt des Chromosoms trägt die sogenannten Ir (Immune response) Gene. Sie sind für die Immunantwort gegenüber bestimmten Antigenen verantwortlich (McDEVITT et al., 1972). Die meisten Ir Gene liegen in der Subregion I-A, eine kleinere Anzahl in I-B und einige in I-A und I-E (BENACERRAF et al., 1975). Diese Gene gehören zu den Klasse II Genen.

2.2.3. Rind

STONE et al. (1965) führten die verzögerte Abstoßung von Hauttransplantaten bei Rinderzwillingen mit Erythrozytenchimärismus auf Unterschiede in einem damals noch nicht bekannten Histokompatibilitätssystem zurück.

BOROVSKA und DEMANT (1967) wiesen die bisher nur an Erythrozyten festgestellten Blutgruppenantigene des S-Systems H' und U₁ an Leukozyten des Rindes nach. Sie diskutierten einen möglichen Zusammenhang zwischen diesem Blutgruppensystem und der Histokompatibilität.

MCGARY und STONE (1970) erbrachten Hinweise auf genetisch determinierte Membranantigene der Lymphozyten. Sie untersuchten Lymphozyten von Rindern aus mehreren Familien im Fluoreszenz-Zytotoxizitätstest.

Es gelang SCHMID und OTTO (1970) sowie SCHMID und CWIK (1972) leukozytenspezifische Blutgruppenantigene zu beschreiben. Sie gewannen durch Immunisierung von Rindern mit Lymphozyten bzw. mit polymorphkernigen Leukozyten antileukozytäre Iso- und Heteroimmunseren. Mit diesen Seren konnten sie eine Reihe von verschiedenen Lymphozyten- und Granulozytenantigenen differenzieren.

SCHMID und CWIK (1973) fanden genetisch determinierte Rezeptoren für das Lektin Phaseolus vulgaris an Lymphozyten und Granulozyten des Rindes.

Das J-Antigen des Rindes, das an Erythrozyten und in löslicher Form im Blutserum vorkommt, wurde von HRUBAN und SIMON (1973) auch an Rinderlymphozyten nachgewiesen.

Von OSTRAND-ROSENBERG und STORMONT (1974) wurde bewiesen, daß es sich bei den von ihnen nachgewiesenen Blutgruppenantigenen an Erythrozyten und Leukozyten des Rindes um Membranstrukturen handelte, die untereinander keine Beziehungen

erkennen ließen. Dieser Beweis wurde mit erythrozyten-spezifischen Blutgruppentestseren im Lymphozytotoxizitätstest geführt.

Auch FOLGER und HINES (1976) konnten keine Beziehung zwischen Lymphozytenantigenen und Erythrozytenantigenen oder Spermaantigenen des Rindes herstellen.

Untersuchungen von SCHMID et al. (1978) belegten, daß die erythrozytären Blutgruppenfaktoren E'_3 und Y' aus dem B-Blutgruppensystem des Rindes auch an Rinderlymphozyten vorhanden sind.

In den Jahren 1977 und 1978 entdeckten CALDWELL et al. sechs verschiedene Lymphozytenantigene, die von sechs kodominanten Allelen des BoLA-Systems kontrolliert wurden. Sie benutzten dazu Antilymphozytenseren, die von trächtigen Rindern gewonnen wurden.

AMORENA und STONE (1978) identifizierten 11 Lymphozytenantigene. Sie wurden durch kodominante Allele kontrolliert und einem genetischen Locus des BoLA-Systems zugeordnet. Zur gleichen Zeit wurde darauf hingewiesen, daß es sich bei diesen Antigenen um Histokompatibilitätsantigene handelt, die bei Transplantationsreaktionen bedeutungsvoll sind und somit dem MHC des Rindes angehören.

Nach Untersuchungen von USINGER et al. (1977) sind die bereits nachgewiesenen Lymphozytenantigene des Rindes von mehr als einem genetischen Locus kontrolliert.

SPOONER et al. (1978) bestätigten mit ihren Ergebnissen, daß es sich bei den Lymphozytenantigenen des Rindes um Histokompatibilitätsantigene handelt, die durch eine Reihe eng gekoppelter Loci kontrolliert werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen wiesen auf mindestens 17 verschiedene, genetisch determinierte Antigenfaktoren hin.

Mit nach Hauttransplantationen beim Rind gewonnenen Antilymphozytenseren wurden von VOLLMER (1979) und SLEPCHENKO et al. (1978) 12 verschiedene Lymphozytenantigene definiert.

In einem ersten internationalen BoLA-Vergleichstest im August 1978 gelang es die bisher in den einzelnen Laboratorien serologisch nachgewiesenen Antigene in 11 Gruppen (Cluster) einzuteilen (SPOONER et al., 1979 a).

SPOONER et al. (1980) spalteten die Seren bestimmter Cluster aus dem I. Internationalen Vergleichstest durch Absorption in weitere Antikörperpopulationen auf. Es gab Hinweise, daß innerhalb dieser Cluster Untergruppen-Spezifitäten definierbar sind.

Von wenigstens vier Untergruppen innerhalb des Clusters W6 berichteten SPOONER et al. (1980, 1981).

LEVEZIEL und HINES (1984) beschrieben eine enge Kopplung zwischen dem erythrozytären M-System des Rindes und dem BoLA-System.

Eine enge Beziehung besteht zwischen dem BoLA-Antigen W16 und dem erythrozytären Antigen M', ebenso wie zwischen dem

BoIA Antigen OH 26 und dem erythrozytaren Antigen M₁. Die kontrollierenden Loci sind sehr wahrscheinlich eng gekoppelt (HINES et al. 1984a).

GRZYBOWSKI und LEVEZIEL (1984) berichteten von der Bildung von Anti-M'-Antikörpern bei einer Kuh, die die erythrozytare Blutgruppe M' nicht besaß, durch Anpaaarung mit einem Bullen, der das Lymphozytenantigen W16 trug. Nach einer Hauttransplantation von der M' positiven Tochter auf die Mutter, entwickelte das Muttertier ein starkes Antiserum gegen W16.

Die serologisch nachgewiesenen Produkte der MHC Klasse I Gene des Rindes werden von Allelen an einem Locus kontrolliert, der als BoIA-A Locus bezeichnet wird.

Weitere A-Locus Spezifitäten sind beschrieben, haben international aber noch keine Bestätigung gefunden (SPOONER und TEALE; TEALE, KEMP und SPOONER, zit. bei SPOONER et al. 1987, unveröffentliche Ergebnisse).

ANDERSSON et al. (1986a) nehmen an, daß die Klasse I Antigene des Rindes von zwei Loci (A und B) kontrolliert werden.

Auch STEAR und MACKIE (1987) zeigten, daß die Klasse I Antigene W6 und W11 sich nicht immer wie Allele verhalten, die von nur einem Locus kontrolliert werden.

ANDERSSON et al. (1986c) untersuchten die Klasse I Gene des MHC des Rindes in der Southern Blot Analyse. Die Aufspaltung durch ein Restriktionsenzym ergab polymorphe Bruchstücke, die sich in verschiedene Mustertypen einteilen ließen. Man

stellte enge Assoziationen zwischen bestimmten DNS-Typen und den serologischen Spezifitäten W2, W6, W10, W16 fest.

SPLITTER et al. (1987) verfügten über einen murinen, monoklonalen Antikörper, WIM-8, der gegen die BoLA-Spezifität W8 gerichtet ist. Dieser Antikörper reagiert mit allen W8 Merkmalsträgern der Testpopulation, nicht jedoch mit Tieren die andere Merkmale auf den Lymphozyten tragen.

Die Entdeckung der Klasse II Antigene des Rindes (BoLA-D Locus) begann mit der Markierung von Antigenen, die für B-Lymphozyten des Rindes spezifisch waren. CICHON (1979) und CWIK et al. (1979) gelang es sechs solcher Antigene zu markieren, die einem autosomalen und kodominanten Erbgang folgten.

USINGER et al. (1977) stellten fest, daß der BoLA-D Locus aus zwei unterschiedlichen Determinanten besteht.

CURIE-COHEN et al. (1978) sprachen von mindestens vier Loci zur Kontrolle der LD-Antigene beim Rind. Diese Antigene werden jetzt als Klasse II Antigene bezeichnet.

Auf eine enge Kopplung zwischen dem BoLA-A und dem BoLA-D Locus wiesen USINGER et al. (1981) hin.

Einen Nachweis der Klasse II Moleküle mit monoklonalen und konventionell-polyklonalen Antikörpern führten HUANG-XUAN et al. (1982) durch. Sie zeigten, daß die biochemischen Charakteristika der Moleküle ähnlich wie die der Maus und des Menschen waren.

ANDERSSON et al. (1986b) untersuchten die Klasse II Gene des Rindes. Es gab deutliche Hinweise für das Auftreten einer der DQ und der DR Region des Menschen ähnlichen Subregion beim Rind. Ebenso wiesen sie auf eine enge Kopplung zwischen DQ und dem Blutgruppen Locus M hin der ja, wie schon bekannt war, mit dem BoLA-A Locus eng gekoppelt ist.

In weiterer Arbeit definierten ANDERSSON et al. (1986d) neun DQ_{α} Allele und 12 DQ_{β} Allele. Gleichzeitig stellten sie ein Kopplungsungleichgewicht zwischen DQ_{α} - und DQ_{β} -Allelen bei den untersuchten Tieren fest.

2.3. Der MHC und seine Beziehung zu Krankheiten

Das Konzept, daß bestimmte erbliche Faktoren die individuelle Resistenz oder Anfälligkeit gegen bestimmte allergische und infektiöse Krankheiten oder gegen Toxine steuern, ist nicht neu. Untersuchungen an Tieren zeigten, daß genetische Faktoren die Immunantwort auf natürliche komplexe Antigene beeinflussen. WRIGHT und LEWIS (1921) wiesen nach, daß bei verschiedenen Meerschweinchensstämmen die Anfälligkeit für Tuberkulose genetisch festgelegt ist.

KANTOR et al. (1963) gelang es durch Immunisation von Meerschweinchen mit unterschiedlichen 2-4 Dinitrophenyl-Polymeren erstmals eine spezifische genkontrollierte Immunantwort zu beschreiben. Man konnte die Meerschweinchen nach ihrer

Immunantwort in zwei Gruppen einteilen, die 'high responder' und die 'low responder'.

Ähnliche Ergebnisse wurden bei Mäusen erhalten (McDevitt und SELA 1965).

In weiteren Untersuchungen bewiesen ELLMAN et al. (1970) beim Meerschweinchen und MCDEVITT und CHINITZ (1969) bei der Maus, daß autosomal dominant vererbte Gene die Immunantwort kontrollieren und diese Gene innerhalb oder nahe bei dem MHC Locus liegen. Man nannte die entsprechenden Gene Ir (Immune response) Gene.

Tabelle I zeigt die bisher nachgewiesenen Krankheiten mit Beziehung zum Haupt-Histokompatibilitätssystem beim Menschen und verschiedener Tierarten.

Tabelle I

<u>Spezies</u>	<u>Krankheiten</u>	<u>Autor</u>
<u>Mensch</u>	Asthma	Thorsby et al. (1971)
	Lupus erythematosus	Waters et al. (1971)
	Multiple Sklerose	Naito et al. (1972)
	Morbus Hodgkin	Bertrams et al. (1972)
	Uveitis anterior	Brewerton et al. (1973)
	Spondylitis ankylopoetica	Ebringer et al. (1977) Wakefield et al. (1986)
	Pemphigus	Ahmed et al. (1987)

<u>Spezies</u>	<u>Krankheiten</u>	<u>Autor</u>
	Diabetes (IDDM)	Bruserud et al. (1987)
	Rheumatoide Arthritis	Ryder et al. (1979)
	Psoriasis	Svejgaard et al. (1981)
<u>Maus</u>	Friend Virus Leukämie	Lilly (1970)
	Gross Virus	Lilly (1971)
	Leukämogenese	
<u>Huhn</u>	Marek'sche Krankheit	Pazderka et al. (1975) Longenecker et al. (1976)
	Rous Sarkom	Schierman et al. (1977) Collins et al. (1977)
	Autoimmun Thyroiditis	Bacon et al. (1974)
<u>Schwein</u>	B.bronchiseptica	Rothschild et al. (1984)
	Immunantwort	
<u>Pferd</u>	chronische Bronchitis	Lazary et al. (1982)
	Laminitis	Lazary et al. (1982)
	Equines Sarkoid	Dubath et al. (1986)
<u>Rind</u>	Zeckenbefall	Stear et al. (1984)
	Infektion mit Theileria parva	Eugui und Emery (1981)

<u>Spezies</u>	<u>Krankheiten</u>	<u>Autor</u>
	Squamöses Okular- karzinom	Caldwell und Cumber- land (1978)
	Leukämievirus- infektion	Bortolozzi und Hines (1982) Bernoco et al. (1984) Shishkov und Slepchenko (1986) Lewin und Bernoco (1986) Lewin et al. (1986)
	Bovine Virus Diarrhoe	Dam und Østergard (1984)
	Respiratorische Erkrankungen	Østergard (1987)
	Mastitis	Solbu et al. (1982) Meyer et al. (1984) Larsen et al. (1983) Hines et al. (1985) Larsen et al. (1985) Schmid (1986) Lewin et al. (1987) Madsen et al. (1987) Oddgeirsson et al. (1987) Solbu (1987)

Die Verbindung zwischen dem Histokompatibilitätssystem und bestimmten Krankheiten des Menschen besteht darin, daß bei erkrankten Patienten bestimmte HLA Antigene eine höhere oder niedrigere Frequenz aufweisen, im Vergleich zu Menschen, die nicht an dieser Erkrankung leiden. Das bedeutet, daß bestimmte HLA Merkmalsträger ein höheres Erkrankungsrisiko gegenüber bestimmten Krankheiten aufweisen als Menschen, die dieses Merkmal nicht besitzen.

Es wird vermutet, daß das HLA Gen keinen direkten Bezug zur Krankheit besitzt, sondern daß dieses Gen mit einem bestimmten Immunantwortgen gekoppelt ist, das eine genetische Disposition zur Entstehung einer bestimmten Erkrankung ergibt.

Eine andere Theorie besagt, daß die Empfänglichkeit für eine bestimmte Krankheit von sehr vielen Genen abhängig ist, und die HLA Gene nur einen Teil der genetischen Basis kontrollieren.

Die Mastitis des Rindes wurde wegen ihrer wirtschaftlichen Bedeutung sehr eingehend auf ihre Ursachen hin untersucht. Die Erblichkeit der Mastitis und somit ihre genetisch bedingte Grundlage stellten verschiedene Autoren fest (LUSH, 1950; LEGATES und GRINNELS, 1952).

MITSCHERLICH et al.(1966) prüfte die Beziehungen zwischen der Mastitisresistenz des Schwarzbunten Niederungsrind und seinen erythrozytären Blutgruppen. Seine Befunde ergaben, daß besonders bei den Streptokokkeninfektionen Zusammenhänge zwischen der Veranlagung der Blutgruppenfaktoren und der Mastitisresistenz bestehen.

Beim Rind bestehen nach MEYER et al. (1984) signifikante Zusammenhänge zwischen BoLA-Typen und der Anfälligkeit gegenüber Mastitiden.

Zur genetischen Selektion, nicht für Mastitis prädisponierter Rinder, konnten dann möglicherweise die entsprechenden BoLA-Antigene genutzt werden, wenn als Voraussetzung eine genetische Korrelation zwischen einem bestimmten 'Marker' und der Krankheitsempfänglichkeit vorliegt.

Im Falle der polygenen Erkrankung Mastitis sind die MHC Produkte als immunologische Marker besonders geeignet, da die zugeordneten Gene sowohl die individuelle Fitness, als auch das Überleben der Population bestimmen (LIE, 1985).

Die Mastitis als Krankheitskomplex ist in der Literatur auf verschiedene Weise festgelegt.

Die meisten Autoren unterscheiden nicht zwischen einer subklinischen und einer klinischen Mastitis.

DUDA und PIRCHNER (1987) definieren Mastitis als einen positiven bakteriologischen Befund der Milch und einem zellularem, positiven Befund im Schalmtest ab einem Beurteilungsschlüssel von einem +. Dies entspricht einer Zellzahl von 150 000 bis 500 000 Zellen/ml Milch.

Die INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1987) bezeichnet Mastitis als eine entzündliche Reaktion der Brustdrüse.

SOLBU et al. (1983) legt den Begriff Mastitis für eine klinische Mastitis, die innerhalb vier Monate nach der Geburt aufgetreten ist fest.

MEYER et al. (1984) bezeichnet diejenigen Tiere mit einer Zellzahl über 300 000 Zellen/ml Milch als Mastitistiere mit Vorliegen einer Sekretionsstörung.

Zur subklinischen Mastitis werden verschiedene Definitionen verwendet:

Nach der INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1987) wird die subklinische Mastitis in eine unspezifische, subklinische Mastitis und eine infektiöse, subklinische Mastitis unterteilt. Erstere ist als eine Sekretionsstörung mit einer Erhöhung der Zellzahl in der Milch über 500 000 Zellen/ml Milch definiert, wobei keine euterpathologischen Keime nachweisbar sind.

Die infektiöse subklinische Mastitis wird als eine Erhöhung des Zellgehalts der Milch über 500 000 Zellen/ml Milch und dem Nachweis von euterpathogenen Keimen definiert.

Nach DAHME und WEISS (1983) ist die subklinische Mastitis durch einen Zellgehalt der Milch über 250 000 Zellen/ml Milch gekennzeichnet.

KLASTRUP (1985) stellte fest, daß die Diagnose der subklinischen Mastitis auch den dynamischen Charakter der Erkrankung in Betracht ziehen sollte. Tritt die Erkrankung bei jüngeren Tieren auf, ist sie von kurzer Dauer und wird häufig durch weniger pathogene Keime hervorgerufen. Bei älteren

Tieren entstehen häufiger persistierende Infektionen, die durch stärker pathogene Mikroorganismen hervorgerufen werden.

2.4. Lymphozytenisolierung

Die Voraussetzung für eine serologische Untersuchung von Lymphozytenantigenen sind Lymphozytenpräparationen, die frei von Erythrozyten, Granulozyten und Thrombozyten sein müssen (THORSBY et al. 1970, OTTO et al. 1970).

Zur Gewinnung von Leukozyten kann beim Menschen, Pferd, Schwein und Huhn die Spontansedimentation der Erythrozyten genutzt werden (FALLON et al. 1962, BÖYUM 1964, OTTO 1970, HARRIS et al. 1970, SCHOLLE et al. 1972).

Dieses Verfahren kann bei Rinder- und Schaferythrozyten nicht angewandt werden, da diese Erythrozyten aufgrund der Ladungsverhältnisse ihrer Membranen nicht spontan sedimentieren (UHLENBRUCK 1971).

THORSBY et al. (1970) und BOYUM (1974) beschrieben zur Lymphozytenisolierung ein Zellgradientenverfahren mit Ficoll, einem hochmolekularen Polysaccharid, in Kombination mit dem Röntgenkontrastmittel Isopaque. Durch die Mischung einer hochmolekularen Substanz mit einer Substanz niedriger molekularer Dichte (diskontinuierlicher Dichtegradient) können

sich die Erythrozyten mit dem Polymer vereinigen und sedimentieren, während sich im niedermolekularen Material die Lymphozyten anreichern. Sie bilden an der Grenze zum hochmolekularen Polysaccharid eine weiße Ringzone.

Die modifizierte Säulentrennung nach der von BRANDT et al. (1962) angegebenen Methode erwies sich als beste Technik zur Gewinnung reiner Lymphozytensuspensionen aus menschlichem Blut.

KISSMEYER-NIELSEN et al. (1967) empfahlen eine Lymphozytenisolierung durch Flotation in Rinderalbumin.

OTTO et.al. (1970), OTTO (1970) und SCHOLLE et al. (1972) beschrieben ein Dichtegradientenverfahren unter Einsatz des jodhaltigen Röntgenkontrastmittels Uromiro.

DORN et al. (1987) entwickelte ein neues System zur Abtrennung von mononuklearen Zellen aus dem Blut. Dabei wird ein kolloidales Medium (Seprazell MN-System) mit dem Blut vermischt und zentrifugiert. Dadurch entwickelt sich ein kontinuierlicher Dichtegradient in dem sich die peripheren Blutzellen entsprechend ihrer Dichte anordnen. Der Vorteil dieses Verfahrens ist eine bessere Trennung und eine schonende Isolierung der Lymphozyten, sowie die Möglichkeit einer Auftrennung von Lymphozyten und Monozyten.

Verschiedene Autoren befaßten sich mit der Verbesserung der Reaktionssensibilität der Lymphozyten gegenüber dem Komplement. Durch eine Vorbehandlung mit proteolytischen Enzymen (MITTAL et al. 1969, BRAUN et al. 1972, GIBOFISKY et al.

1972), Neuraminidase (YUNIS et al. 1970), oder Sulfhydryl-Verbindungen (MERCURIÁLI et al. 1971, SIRCHIA et al. 1973) konnte die Empfindlichkeit der Lymphozyten gegenüber Komplement erhöht werden.

2.5. Methoden zum Nachweis von Lymphozytenantigenen

Zelluläre Lymphozytenantigene lassen sich serologisch im Lympho-Agglutinationstest und im zytolytischen Test nachweisen. Als Methode der Wahl hat sich der mikrozytotoxische Test bewährt.

Zum Nachweis von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum des Menschen wird die Zweifarben-Fluoreszenzmethode empfohlen (CAMBON-THOMSEN et al. 1985).

2.5.1. Mikrozytotoxizitätstest

Im Zytotoxizitätstest ist eine komplementabhängige Antigen-Antikörperreaktion nachweisbar. Beim Vorliegen von lymphozytotoxischen Antikörpern im Serum und dem korrespondierenden Antigen an der Zellmembran von Lymphozyten kommt es zu einer reaktionsbedingten Membranschädigung. Diese kann nach

Zugabe von Vitalfarbstoffen, wie Eosin oder Trypanblau, sichtbar gemacht werden. Geschädigte, angefärbte Zellen können im Farbausschluß im Phasenkontrastmikroskop von ungeschädigten Zellen unterschieden werden. Gefärbte Zellen zeigen eine positive Reaktion, ungefärbte Zellen eine negative Reaktion.

Die Auswertung des Testes erfolgt durch Beurteilung des prozentualen Anteils der geschädigten Zellen.

Zwei im Prinzip identische Methoden stehen zur Verfügung, die sich nur in der Menge des einzelnen Versuchsansatzes unterscheiden.

Ein Makrotest wurde von ENGELFRIET et al. (1965) und WALFORD et al. (1965) und der Mikrotest von TERASAKI et al. (1964), AMOS (1966) und KISSMEYER-NIELSEN et al. (1967) beschrieben.

Heute gilt der Mikrotest als international anerkannte Standardmethode (ALBERT 1973, BYRNS 1985).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methode

3.1.1. Versuchsaufbau und Tiermaterial

Die vorliegende Arbeit besteht aufgrund einer unterschiedlichen Struktur, der zur Untersuchung zur Verfügung stehenden Rinderpopulation und den damit zusammenhängenden Fragestellungen aus zwei Teilen.

Der erste Teil der Arbeit erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Tierzucht und Haustiergenetik der Universität Giessen.

In diesem Arbeitsabschnitt wurden Zusammenhänge zwischen subklinischer Mastitis und BoLA-Antigenen untersucht.

Zu diesen Untersuchungen standen frische Blutproben von 309 Rinder der Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind zur Verfügung. 18 Stunden nach Blutentnahme wurden die Lymphozyten aus diesen Blutproben isoliert und serologisch untersucht. Außerdem fand eine Blutgruppenanalyse der Erythrozyten im Immunhämolysetest statt.

Die Rinder stammen aus 88 Betrieben aus dem Giessener Umland, die dem Hessischen Verband für Leistungsprüfungen (HLV) angeschlossen sind.

Die Tiere stehen in keinem engen Verwandtschaftsverhältnis. Sie stammen von 101 Bullen ab. Fünf dieser Bullen haben mehr als sieben Töchter in der Versuchspopulation.

Die Kühe sind im Durchschnitt zwischen fünf und sechs Jahre alt. Die Aufstallung erfolgt als Anbinde- oder Laufstallhaltung.

Von jedem Rind wurde in Giessen während der Farsenlaktation alle vier Wochen eine Milchprobe abgenommen und mit dem Fosomatic-Gerät der Firma Fosselectric die Zellzahl der Probe bestimmt. Der Zeitraum der Milchprobenentnahme erstreckte sich bis zum 270. Tag der Laktation. Von jedem Tier wurden die ersten zehn Milchproben untersucht. Die vorliegenden Zellzahlen von jedem Tier wurde logarithmiert (Logarithmus Basis 10) und daraus der Mittelwert (mittlere logarithmierte Zellzahl) berechnet. Dieser Wert dient zur Kennzeichnung der Eutergesundheit des Tieres.

Die Definition der subklinischen Mastitis ist in der Literatur nicht eindeutig festgelegt. Manche Autoren nehmen 300 000 Zellen andere 500 000 Zellen/ml Milch als Grenzwert an.

In der Giessener Untersuchung wurde für jedes Versuchstier eine Eutergesundheitsnote gebildet, die wie folgt festgelegt wurde:

Eutergesundheitsnote 1	Keine Milchprobe des Tieres wies über 100 000 Zellen/ml Milch auf
------------------------	---

Eutergesundheitsnote 2	80% der Milchproben des Tieres hatten weniger als 100 000 Zellen/ml Milch, keine der Proben enthielt mehr als 300 000 Zellen/ml Milch
Eutergesundheitsnote 3	Aus den vorliegenden Proben konnte keine eindeutige Zuordnung zur Euternote 1, 2 oder 4 erfolgen
Eutergesundheitsnote 4	50% und mehr Proben des Tieres hatten Zellgehalte von über 100 000 Zellen/ml Milch

Die Prüfung der Lymphozytenantigene im Blut erfolgte serologisch mit dem Lymphozytotoxizitätstest nach der international vereinbarten Standard-Methode zur Durchführung des III.BoLA-Vergleichstest 1985 (III.BoLA-Workshop, Göttingen, 1984).

Im Lymphozytotoxizitätstest wurden insgesamt 87 Antilymphozytenseren (ALS) eingesetzt. Sie enthielten zytotoxische Antikörper, die gegen 16 BoLA Spezifitäten gerichtet waren. 18 der eingesetzten ALS stammten aus fremden Instituten. Es handelt sich um zwei Seren aus der Abteilung für Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, elf Seren aus Kopenhagen, drei Seren aus dem Labor Ivanka Pri Dunaji in der CSSR und ein Serum aus dem Institute of Zootechnics, Department of Immunology, Balice-Krakau in Polen. Bei allen anderen im Test eingesetzten Antilymphozytenseren handelt es sich um institutseigene Seren.

Seren mit zunächst unbekanntem Titer wurden zur Titerbestimmung einer Titrationsanalyse mit Lymphozyten von 90 Rindern aus dem Schlachthof München unterzogen.

Der zweite Teil der Arbeit wurden die Zusammenhänge zwischen BoLA-Antigenen und der Mastitis untersucht.

Dazu entnahmen wir von 304 Rindern Blutproben. Die Tiere teilten sich in zwei Gruppen auf. Eine Gruppe setzte sich aus Kühen unterschiedlicher Rassen zusammen, von denen das Ergebnis einer zytologischen und bakteriologischen Milchuntersuchung¹⁾ aus den Jahren 1985 - 1987 über eine Bestandsuntersuchung zur Mastitiskontrolle vorlagen. Die Tiere standen in verschiedenen staatlichen Betrieben.

Die andere Gruppe bestand aus Tieren, deren Milchbefunde keinen Hinweis auf Mastitis ergaben und aus Kalbern, die Mastleistungsprüfgruppen angehörten.

Insgesamt waren zwei Rassen beteiligt:

Tabelle II: Rassenverteilung in den einzelnen Betrieben

<u>Rasse</u>	<u>Anzahl der Tiere</u>	<u>Betrieb-Nr.</u>
Braunvieh	48	-2-
	26	-6-
		Mastleistungsprüfgruppe

1) Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.,
Eutergesundheitsdienst
Senator-Gerauer-Straße 23
8011 Grub b. München

Fleckvieh	63	-3-
	47	-4-
	42	-1-
	51	-5-
		Mastleistungsprüfgruppe
	27	-7-

Die Tiere waren im Laufstall auf Spaltenboden oder in Anbindehaltung aufgestellt. Eine Herde von Fleckviehgrindern wird als Mutterkuhherde gehalten.

Die Tiere stammen von insgesamt 111 Vätern ab. Drei der Väter haben mehr als sieben Töchter in der Versuchspopulation. Die Tiere stehen in keinem engen Verwandtschaftsverhältnis.

Die Milch wurde sowohl auf ihren Zellgehalt, als auch mikrobiologisch durch bewährte kulturelle Verfahren auf vorhandene Keime und ihren Keimgehalt hin untersucht.

Die Zellzahlbestimmung erfolgte über den Soneltest. Man wandte folgenden Schlüssel an:

<u>Schlüsselzahl</u>	<u>Zellzahl/ml Milch</u>
0	0 - 200 000
?	150 000 - 550 000

1	400 000 - 1,5 Mill.
2	800 000 - 5 Mill.
3	meist über 5 Mill.

Die Untersuchungsbefunde stammen aus dem Zeitraum 1984 bis 1987.

Die klinische Mastitis wurde wie folgt definiert:

- i: Vorliegen eines Schalmtestbefundes ≥ 1
(unspezifische subklinische Mastitis)
- ii: i und/oder Vorliegen eines mikrobiologischen Befundes
mit euterpathogenen Keimen

Der Lymphozytotoxizitätstest wurde in gleicher Weise wie im ersten Teil der Arbeit durchgeführt.

3.1.2. Lymphozytenisolierung

Zur Lymphozytenisolierung wurde den Rindern 8 ml Blut aus der Vena jugularis mit dem Monojectsystem entnommen. Die verwendeten Entnahmeröhrchen wurden vor Anlegen des Unterdrucks (1.0 kp/cm^3) mit 2 ml Stabilisator (Zusatz zum Blut

im Verhältnis Blut : Stabilisator = 4 : 1) gefüllt.

Der Stabilisator hatte folgende Zusammensetzung:

Natriumchlorid	2,5 g
Natriumcitrat	30,0 g
Natriumcyanid	0,4 g
Streptomycin	0,5 g
Aqua dest.	ad 1000,0 ml

Der Zusatz des Stabilisators bewirkt eine Hemmung der Blutgerinnung und dient zur Verhinderung einer bakteriellen Verunreinigung des Blutes.

Die Isolierung der Lymphozyten erfolgte im Dichtegradientenzentrifugationsverfahren. Das Röntgenkontrastmittel Uromiro¹⁾ wurde durch Zugabe von destilliertem Wasser auf ein spezifisches Gewicht von $1,076 \text{ g/cm}^3$ eingestellt. 3,5 ml stabilisiertes Blut wurden auf 3,0 ml Uromiro mit der Dichte von $1,076 \text{ g/cm}^3$ überschichtet und 30 Minuten bei 400 g zentrifugiert. Die Erythrozyten und Granulozyten sedimentierten, die Lymphozyten und Thrombozyten reicherten sich in einer weißen Ringzone zwischen Sediment und einem gelben Überstand an. Nach dem Abziehen der Lymphozyten und Thrombozyten mit einer Pasteurpipette wurden in drei Waschvorgängen die Lymphozyten von den Thrombozyten getrennt. Bei jedem Waschvorgang wurden die Zellen in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und anschließend bei 100 g zehn Minuten zentrifugiert. Danach befanden sich die Lymphozyten im Sediment und hafteten am Boden des Reagenzglases. Die Thrombozyten im Überstand wurden verworfen.

1) Dr.Franz Köhler Chemie, 6146 Alsbach-Bergstraße

Falls die isolierte Lymphozytensuspension mit Erythrozyten verunreinigt war, mußten diese durch den Zusatz einer 0,85 %igen wässrigen Ammoniumchloridlösung zunächst hämolytisch gemacht werden. Der Hämolysen folgten zehn Minuten dauernde Zentrifugation bei 100 g und zwei weitere Waschvorgänge.

Die gewaschenen Lymphozyten wurden in physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und für den Lymphozytotoxizitätstest auf eine Dichte von $4,0 \times 10^9/l$ eingestellt.

3.1.3. Serologischer Nachweis der Lymphozytenantigene

Der Mikrozytotoxizitätstest ist die Methode der Wahl zum Nachweis von Lymphozytenantigenen.

3.1.3.1. Mikrozytotoxizitätstest

Der Test wird nach der von TERASAKI und McCLELLAND (1964) eingeführten Methode durchgeführt.

Die Mikrotestkammern¹⁾ wurden mit Deckol²⁾ gefüllt, um eine Verdunstung und Austrocknung der geringen Serummenge zu verhindern. Mit einer Hamilton-Mikroliterpipette³⁾ wurden je ein Mikroliter Serum in die vorgesehenen Vertiefungen der Kammern pipettiert.

Es bestand die Möglichkeit, die so präparierten Kammern bei -70°C einzufrieren und am jeweiligen Tag die für den Test benötigte Anzahl an Kammern aufzutauen.

Im zweiten Arbeitsgang wurde zu den Seren je ein Mikroliter Lymphozytensuspension der Zelldichte $4,0 \times 10^9/l$ hinzugefügt. Darauf wurde der Testansatz 30 Minuten bei Zimmertemperatur (22°C) inkubiert.

Nun wurden je fünf Mikroliter nicht absorbiertes Kaninchenkomplement zugesetzt, und eine Inkubationszeit von 60 Minuten abgewartet.

Darauf wurden 0,5 Mikroliter einer 5 %igen wässrigen Eosinlösung⁴⁾ einpipettiert. Nach weiteren fünf Minuten erfolgte die Fixierung der Reaktion durch Zugabe von je fünf Mikroliter einer 37 %igen Formalinlösung (pH 7,4).

Der Zytotoxizitätstest wurden im umgekehrten Phasenkontrastmikroskop⁵⁾ bei 400-facher Vergrößerung abgelesen. Nach Formalinfixation war eine Ablesung bis zu 24 Stunden nach Testansatz ohne Beeinträchtigung der Spezifität der Reaktion möglich.

1) C.A.Greiner & Söhne GmbH & Co KG, D-7440 Nürtingen

2) Biotest-Serum-Institut GmbH, Frankfurt am Main

3) Hamilton Syringe Co., Anaheim, California, USA

4) Eosin Art.1345, E.Merck, Darmstadt

5) Wild (M 40), Heerbrugg, Schweiz

Der prozentuale Anteil der gefärbten und somit geschädigten Zellen wurde nach folgendem Schlüssel beurteilt:

<u>Prozentsatz der ge-</u> <u>schädigten Lymphozyten</u>	<u>Reaktionsgrad</u>
0 - 10 %	1
11 - 20 %	2
21 - 40 %	3
41 - 80 %	4
81 -100 %	5

Im Hinblick auf eine statistische Auswertung wurden nur die Reaktionsgrade vier und fünf als positive Reaktionen gewertet.

In jedem Testansatz wurde physiologische Kochsalzlosung als Kontrolle mitgeführt, um Zellschädigungen, die nicht auf Antigen-Antikörperreaktionen zurückzuführen waren, zu erkennen.

Die Testseren wurden nach vorangehender Titrationsanalyse mit jeweils den Titern eingesetzt, die eine spezifische Reaktion auf ein Lymphozytenantigen sicherstellten.

3.1.3.2. Mikrotitration

Mit dieser Methode kann unter Verwendung kleiner Serummengen die Titration in der Mikrotestkammer durchgeführt werden.

Für jede Verdünnungsreihe wurde je eine Reihe aus zehn Vertiefungen in der Mikrotestkammer benutzt. In die Vertiefungen wurde ein Mikroliter physiologische Kochsalzlosung pipettiert, wobei jeweils die erste Vertiefung ausgelassen wurde. In diese wurden zwei Mikroliter des Antilymphozytenserums einpipettiert. Nun wurde mit einer Hamilton-Mikrotiterspritze jeweils ein Mikroliter in die zweite Vertiefung übergeführt, mit der physiologischen Kochsalzlosung gut vermischt und dann mit der Mikrotiterspritze in einer geometrischen Verdünnungsreihe bis zu einer Verdünnung von 1:512 weitergeführt. Anschließend wurden die Kammern mit Decköl gefüllt.

Um eine Verdunstung der kleinen Flüssigkeitsmengen zu vermeiden mußte die Verdünnung der Seren ziemlich schnell durchgeführt werden, und die Kammern danach sofort mit Decköl beschickt werden.

Der Zytotoxizitätstest wurde in der beschriebenen Weise ausgeführt.

3.1.3.3. Antikörperfraktionierung durch Absorption

Die Absorption der Antilymphozytenserum wurde mit Lymphozyten aus dem peripheren Blut durchgeführt. Je nach Antikörpertiter der Seren wurde mit unterschiedlichen Mengen an Lymphozyten absorbiert.

Antikörpertiter der

<u>Antilymphozytenserum</u>	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
-----------------------------	-------	-------	-------	--------

Anzahl zur Absorption

<u>benötigter Lymphozyten</u>	2×10^7	$2,5 \times 10^7$	3×10^7	4×10^7
-------------------------------	-----------------	-------------------	-----------------	-----------------

Die Lymphozytenisolierung erfolgte wie zuvor beschrieben. Um möglichst wenig Flüssigkeit mit den Lymphozyten in das Serum einzubringen und dadurch eine unnötige Verdünnung des Serums zu vermeiden, wurden die Lymphozyten eines Tieres aus den verschiedenen Röhrchen nach dem zweiten Waschvorgang mit einer Pasteurpipette in ein Reagenzglas übergeführt und dann erst ein drittes Mal gewaschen.

Im Fall einer Verunreinigung der Lymphozytensuspension mit Erythrozyten mußte nicht hamolysiert werden, da die Absorption dadurch nicht beeinflußt wurde. Die Lymphozyten wurden in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit einem Milliliter unverdünntem Serum vermischt. Unter häufigem Schütteln wurde der Versuchsansatz 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Anschließend folgte eine Inkubation bei 4°C im Kühlraum über 20 Minuten. Danach wurden die Zellen in der Kühlzentrifuge bei 1000 g 10 Minuten lang abzen-

trifugiert.

Die absorbierten Seren wurden bei -70°C aufbewahrt.

Die Absorption wurde auf ihre Vollständigkeit überprüft. Die Lymphozyten der Tiere, die zur Absorption verwendet wurden dürfen mit den gewonnenen, absorbierten Antilymphozytenseren nicht mehr reagieren.

Außerdem wurden die absorbierten Seren nochmals gegen alle Lymphozyten getestet, gegen die sie schon vor der Absorption getestet worden waren. Hierdurch konnte festgestellt werden, welche Reaktionen durch die Absorption verloren gegangen waren. Dadurch wurde die Fraktionierung zu oligo- bzw. monovalenten Antilymphozytenseren nachgewiesen.

4. Ergebnisse

4.1. Lymphozytenantigene der Schwarzbunten Rinder

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Lymphozytenantigene von 309 Schwarzbunten Rindern aus dem Giessener Umland im lymphozytotoxischen Test geprüft.

Bei der Reaktion mit insgesamt 87 Antilymphozytenserum reagierte ein Tier mit keinem dieser Seren. Das entspricht einem Prozentsatz von 0,32%.

18 Tiere (5,82%) konnten aufgrund ihrer Testergebnisse mehr als zwei Spezifitäten zugeordnet werden.

Der Nachweis einer Spezifität konnte bei 53 (17,15%) Tieren der Versuchspopulation erbracht werden. Alle übrigen Rinder (82,8%) wiesen zwei Spezifitäten auf.

In der Auswertung wurden nur 290 Rinder mit einer oder zwei Spezifitäten berücksichtigt (94,2%).

Im Lymphozytotoxizitätstest wurden zum Teil Seren aus Laboratorien benutzt die am III.Internationalen BoLAVergleichstest in Helsinki teilgenommen hatten. Damit konnte ein größeres Spektrum von Lymphozytenantigenen untersucht werden, als es allein nur mit Seren des Gruber Instituts möglich gewesen wäre. Für die im Test eingesetzten Seren wurde die Bezeichnung des jeweiligen Serum im III.Internationalen BoLA Vergleichstest übernommen. Dort wurden die Antilymphozytenserum mit einer Kurzbezeichnung für das jeweilige Laboratorium und einer Nummer zur Identifikation des Serums gekennzeichnet. Diese Laboratoriumsbezeichnungen sind soweit

verwendet in folgender Übersicht dargestellt:

COD	Kopenhagen/Dänemark
HWG	Hannover/Westdeutschland
IVC	Ivanka Pri Dunaji/CSSR

Die Seren 521805, 521903, 522301, 522701, 522702, 522903, 523004, 304II/45, 129/13, 129/14, 57/14, 131/30, 131/38, 412/3, 412/5, 88/38, 98/38 sind absorbierte Seren.

Folgende Lymphozytenantigene konnten mit den eingesetzten Testseren ermittelt werden:

Tabelle III: nachgewiesene Lymphozytenantigene

<u>BoLA-Spezifität</u>	<u>ALS-Bezeichnung</u>	<u>Laboratorium</u>
W2	GWG 187	Grub
	COD 033	Kopenhagen
W5	GWG 205	Grub
W6	GWG 415	Grub
	GWG 412	Grub
W7	5227	Grub
	522701	Grub
	522702	Grub
	523004	Grub
W8	GWG 204	Grub
	GWG 406	Grub

W9	GWG 408a	Grub
	GWG 413	Grub
	COD 044	Kopenhagen
	COD 045	Kopenhagen
W10	304 I	Grub
	IVC 005	Ivanka Pri Dunaji
W11	IVC 004	Ivanka Pri Dunaji
	HWG 008	Hannover
W12	IVC 008	Ivanka Pri Dunaji
	COD 055	Kopenhagen
W13	5208	Grub
	5209	Grub
	521903	Grub
W16	M-Pol.-Roh	Krakau
	M-Dän.-Roh	Kopenhagen
	M-Mü.-abs.	Grub
	COD 036	Kopenhagen
W20	57	Grub
	57/14	Grub
	131/30	Grub
	131/38	Grub
Mü 24	GWG 024	Grub
	GWG 129	Grub
	129/13	Grub
	129/14	Grub
21	GWG 129	Grub
	57	Grub
	122	Grub
	304II/45	Grub

26	COD 060	Kopenhagen
32	COD 048	Kopenhagen

Die Bezeichnung W bedeutet, daß diese Antigene international bestätigt worden sind (1st. International Bovine Lymphocyte Antigen (BoLA) Workshop, 1978).

Das Lymphozytenantigen W2 konnte bei der Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind nicht nachgewiesen werden. Dies entspricht auch den Ergebnissen früherer Untersuchungen aus dem III. Internationalen Vergleichstest 1986 für die Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind.

Die Antigenfrequenzen wurden aus dem Verhältnis der positiv reagierenden Tiere zu der Gesamtzahl der ausgewerteten Tiere errechnet.

Das Lymphozytenantigen W5 wurde bei 16 Tieren (5,51%) ermittelt.

Die Spezifität W6 konnte bei 130 Tieren (44,82%) festgestellt werden. Bei dem BoLA Antigen W6 konnte durch das ALS GWG 412 auch die Untergruppe 6.5 erfaßt werden (Zimmermann, 1987). Von den Tieren mit der BoLA Spezifität W6 reagierten 15 (5,51%) mit dem ALS GWG 412. Diese Tiere besaßen die Untergruppe 6.5. Die Spezifität 6.5 trat niemals ohne die Spezifität W6 auf.

Das BoLA Antigen W7 wurde als Blockreaktion mit vier ALS, die alle oligospezifisch waren, nachgewiesen. Es wurden vier

Seren, die diese Spezifität besaßen, im Block hintereinander im Test angeordnet. Um als Merkmalsträger für diese Spezifität gewertet zu werden, mußte ein Tier mit allen vier Seren positive Reaktionen zeigen. Die Antigenfrequenz dieser Spezifität war niedrig (0,68%), sie konnte nur bei zwei in der Auswertung berücksichtigten Tieren nachgewiesen werden. Unter den 16 Tieren die wegen des Auftretens von drei oder vier BoLA Spezifitäten nicht in die Auswertung aufgenommen wurden, war das Merkmal W7 bei fünf Tieren vorhanden. Auffällig war hierbei das gemeinsame Vorkommen der Spezifität W10 mit der Spezifität W7:

Tier, Nr. 1	W6; W7; W8; W10
91	W7; W8,8.1; W10,10.1
92	W7; W8; W10,10.1
205	W5; W6; W7; W10
211	W7; W10,10.1; W20

Auch bei den zwei in der Auswertung berücksichtigten Tieren trat einmal das Merkmal W7 mit dem Merkmal W10 gemeinsam auf.

Das Lymphozytenantigen W8 war ein sehr häufiges Merkmal in der Versuchspopulation. Es wurde bei 112 Tieren (38,62%) nachgewiesen. Durch das ALS HWG 001 konnte zusätzlich die Untergruppe 8.1 ermittelt werden. Sie trat bei 10 Tieren (3,44%) auf.

Bei dem Deutschen Schwarzbunten Rind betrug die Antigenfrequenz des Merkmals W9 0,34%. Es konnte nur bei einem Tier der Versuchspopulation nachgewiesen werden. Die beiden ALS

COD 044 und COD 045 sollten die Untergruppe 9.1 der Spezifität W9 markieren. In gesamten Test reagierten alle Tiere mit dem BoLA-Merkmal W9 auch mit den beiden obengenannten Seren. Es ergab sich kein Unterschied im Reaktionsmuster der vier für den Nachweis der Spezifität W9 verwendeten Seren.

Die Spezifität W10 wurde bei 46 Tieren (15,86%) nachgewiesen. Das Serum 178 markiert die Untergruppe 10.1 der Spezifität W10. Von den getesteten Tieren reagierten 17 (5,86%) mit diesem Serum.

19 Rinder der Versuchspopulation besaßen das Lymphozyten-antigen W11. Das entspricht einer Antigenfrequenz von 6,55%.

Das BoLA Merkmal W12 war bei acht Tieren nachzuweisen. Die Antigenfrequenz betrug 2,75%.

Die Spezifität W13 wurde durch eine Blockreaktion der ALS 5208, 5209 und 521903 markiert. Nur vier der getesteten Rinder (1,38%) besaßen diese Spezifität.

Das BoLA Antigen W16 wurde mit erythrozytaren Anti-M-Seren in einer Blockreaktion nachgewiesen. Rinder die das Merkmal W16 besaßen, mußten mit allen, der im Test hintereinander angeordneten M-Seren positive Reaktionen zeigen. Das erythrozytäre Blutgruppensystem M schließt die Faktoren M_1 , M_2 und M' ein. Wie mehrfach in der Literatur berichtet, besteht ein Zusammenhang zwischen dem erythrozytarem Antigen M' und dem BoLA Antigen W16 (LEVEZIEL, 1985, DAM et al. 1985, HINES und ROSS 1987). Ob hierbei eine Kreuzreaktion vorliegt, oder ob es sich um identische bzw. gekoppelte Antigene handelt,

ist noch nicht ausreichend geklärt. Im vorliegenden Test reagierten alle Lymphozyten der M-positiven Tiere mit den eingesetzten Anti-M-Seren. Insgesamt 39 Tiere wiesen das Antigen W16 auf. Die Frequenz des Antigens betrug 13,44%.

Das am häufigsten auftretende BoLA Merkmal in dieser Versuchspopulation war die Spezifität W20. 131 Rinder (45,17%) zeigten im Test positive Reaktionen mit den korrespondierenden ALS. Die relativ hohe Antigenfrequenz des Merkmals W20 schließt eine Selektion dieses Merkmals in der Versuchspopulation nicht aus.

Die Spezifität 26 lag bei vier Tieren der Testpopulation vor. Die Antigenfrequenz betrug 1,37%.

Fünf Rinder wiesen das BoLA Merkmal 21 auf. Das entspricht einem Prozentsatz von 1,73%.

Das Merkmal 32 wurde nur bei einem Tier (0,34%) festgestellt.

Aus der Antigenfrequenzen der einzelnen BoLA Spezifitäten wurden die Genfrequenzen der Merkmale nach folgender Formel errechnet (BAUR und DANILOVS, 1980):

$$\text{Genfrequenz } p = 1 - \sqrt{(1 - a)},$$

wobei a die Frequenz der einzelnen Antigene darstellt.

In der nachfolgenden Tabelle IV werden die Genfrequenzen der Merkmale W2 bis W20 für die Rasse Deutsches Schwarzbuntes

Rind mit den Genfrequenzen, die für diese Rasse im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest (1986) ermittelt wurden, verglichen. Die Versuchspopulation dieser Rasse umfaßte im Vergleichstest 58 Rinder.

Tabelle IV: Genfrequenzen der BoLA Merkmale der Rasse
Deutsches Schwarzbuntes Rind

	<u>Genfrequenz p</u> <u>Tiere Giessen</u>	<u>Genfrequenz p</u> <u>III.Int.BoLA-Vgl.-Test</u>
W2	0	0
W5	0,027	0,035
W6	0,256	0,196
W7	0,003	0
W8	0,211	0,234
W9	0,001	0,008
W10	0,080	0,071
W11	0,033	0,099
W12	0,015	0,090
W13	0,006	0,017
W16	0,073	0,080
W20	0,272	0,119

4.2. Beziehungen zwischen BoLA-Antigenen und der Euter- gesundheit

Um festzustellen, ob Beziehungen zwischen den BoLA Merkmalen und den mittleren logarithmierten Zellzahlen bestehen, wurden diese so ermittelten Zellzahlen den korrespondierenden BoLA-Spezifitäten zugeordnet. Nur solche Spezifitäten, die jeweils bei mindestens 10 Tieren vorkamen, wurden bei der Auswertung berücksichtigt, da ab dieser Gruppengröße eine statistische Aussage möglich ist. Die Ergebnisse sind der Tabelle V zu entnehmen.

Tabelle V: BoLA Typ zugehörige Mittelwerte
der Zellzahlen und log. Zellzahlen

<u>BoLA-Typ</u>	<u>n</u>	<u>Mittelwert</u> <u>der</u> <u>Zellzahlen</u>	<u>log.Zellzahl</u>
W5	16	84750	4,928
W6,6.5	130	122015	5,086
W8,8.1	112	114360	5,058
W10,10.1	45	128065	5,107
W11	19	125105	5,097
W16	39	120650	5,081
W20	131	114748	5,059

Der Logarithmus der Zellgehalte in den Milchproben besitzt eine höhere Heritabilität und Wiederholbarkeit als die ak-

tuellen Zellzahlen und folgt einer Normalverteilung (SHOOK 1985).

Die Tabelle V zeigt zwar zwischen einzelnen Typen Unterschiede in der mittleren Zellzahl, die Varianzanalyse der Abweichungen zwischen den Mittelwerten ergaben aber keine signifikanten p-Werte.

Zusätzlich wurden die häufigsten BoLA-Merkmalsskombinationen in der Versuchspopulation in Beziehung zu den, mit diesen Kombinationen auftretenden Zellzahlen betrachtet (Tabelle VI). Auch in dieser Tabelle wurden nur Merkmalskombinationen berücksichtigt, die bei mindestens zehn Rindern der Versuchspopulation vorhanden waren.

Tabelle VI: BoLA-Typkombinationen, Mittelwerte der Zellzahlen und log. Zellzahlen

<u>BoLA-Typ-</u> <u>kombination</u>	<u>n</u>	<u>Mittelwert</u>	<u>log.TK Zellzahl</u>
W6 W8	38	133909	4,965
W6 W20	34	100350	4,892
W8 W20	23	84250	4,859
W10 W20	12	154416	5,000
W8 W10	11	87363	4,891
W16 W20	11	134636	5,049
W6 W10	9	120300	4,978
W8 W16	8	176100	5,092

Die häufigste Merkmalskombination war W6 W8. Sie trat bei 13,10% der getesteten Rinder auf. Den BoLA-Typ W6 W20 wiesen 11,7% der untersuchten Rinder auf.

Bei den einzelnen Typkombinationen traten bei den Tieren mit dem BoLA-Typ W10 W20 und bei Rindern mit der Merkmalskombination W8 W16 die höchsten Zellzahlmittelwerte dieser Gruppe auf. Im t-Test zwischen Merkmalsträgern und Nichtmerkmalsträgern, der in der Tabelle aufgeführten Typkombinationen, ergibt sich für die Tiere mit der BoLA-Spezifität W8 W20 und W8 W10 eine signifikante Beziehung zur absoluten Zellzahl (W8 W20 +++ $p < 0,001$, W8 W10 + $p < 0,05$). Kühe mit diesen Kombinationen weisen niedrige mittlere Zellzahlen auf.

Die Übersicht 1 zeigt die prozentuale Verteilung der Eutergesundheitsnoten bei den in die Auswertung aufgenommenen Schwarzbunten Rindern.

Übersicht 1: Verteilung der Eutergesundheitsnoten in der Gesamtpopulation

Euternote 1	23,1%
Euternote 2	24,8%
Euternote 3	34,1%
Euternote 4	17,9%

Die Antigenfrequenzen der einzelnen Merkmale differieren in den Gruppen mit Eutergesundheitsnote "Eins" bis "Vier". Bei Rindern der Gruppe der Eutergesundheitsnote "Drei" und "Vier" trat die Spezifität W10 häufiger auf als bei Tieren der Gruppe "Eins" und "Zwei". Bei den Kühen mit der besten

und der schlechtesten Eutergesundheitsnote trat das Merkmal W16 am häufigsten auf (Tabelle VII), wobei sich keine Signifikanz zu den anderen Gruppen ergab. Die Spezifität W5 wies bei den Rindern mit der Euternote "Vier" die geringste Frequenz auf.

Tabelle VII: Prozentuale Verteilung der einzelnen Antigene
in den Gruppen der Eutergesundheitsnoten

	<u>W2</u>	<u>W5</u>	<u>W6</u>	<u>W7</u>	<u>W8</u>	<u>W9</u>	<u>W10</u>	<u>W11</u>	<u>W12</u>	<u>W13</u>	<u>W16</u>	<u>W20</u>
Euternote 1 n = 52	0,0	7,7	48,0	0,0	40,4	0,0	9,6	7,7	1,9	1,9	15,4	42,3
Euternote 2 n = 99	0,0	5,0	41,4	1,0	41,4	1,0	14,1	8,0	3,0	1,0	8,1	47,5
Euternote 3 n = 72	0,0	8,3	48,6	1,4	34,7	0,0	19,4	4,2	0,0	1,4	12,5	41,6
Euternote 4 n = 67	0,0	1,5	43,2	0,0	35,8	0,0	16,4	6,0	4,5	1,5	14,9	47,7

Tabelle VIII: Genfrequenz der einzelnen Antigene in
den Gruppen der Eutergesundheitsnoten

	<u>W2</u>	<u>W5</u>	<u>W6</u>	<u>W7</u>	<u>W8</u>	<u>W9</u>	<u>W10</u>	<u>W11</u>	<u>W12</u>	<u>W13</u>	<u>W16</u>	<u>W20</u>
Euternote 1 n = 52	0,0	0,039	0,279	0,0	0,227	0,0	0,049	0,039	0,009	0,009	0,080	0,240
Euternote 2 n = 99	0,0	0,025	0,215	0,005	0,234	0,005	0,073	0,041	0,015	0,005	0,035	0,275
Euternote 3 n = 72	0,0	0,042	0,283	0,006	0,192	0,0	0,102	0,021	0,0	0,006	0,064	0,236
Euternote 4 n = 67	0,0	0,007	0,246	0,0	0,195	0,0	0,085	0,030	0,022	0,007	0,077	0,277

4.3. Auswertung der Nachkommengruppen

Von vier Bullen konnten Nachkommengruppen mit mehr als sieben Töchtern zusammengestellt werden. Um die Abstammung der Tochter blutgruppenserologisch zu kontrollieren, wurde das erythrozytare B-Blutgruppensystem der Tochter, mit den aus der Bluttypenkarte des Vaters entnommenen B-Blutgruppenmerkmalen verglichen (Tabellen IX - XII). Dabei mußte eine der beiden erythrozytaren Phanogruppen des Nachkommen mit einer B-Phänogruppe des Vattertieres, bzw. mit deren Fehlen übereinstimmen, um die Abstammung des Tieres zu sichern.

Tabelle IX: Nachkommengruppe Bulle 1

<u>Tier-Nr.</u>	<u>BoLA-Spezifität</u>	<u>Erythrozytäres B-System</u>
16	W6 W20	$BO_1 I''/G_1$
18	W6 W20	$I_2/Q' I''$
23	W6 W20	$I_2/Q' I''$
26	W10 W20	$Q' I''$
27	W10 W20	I_2
43	W6 W8	$G_2 Y_2 E' _1 Q' /BO_1 I''$
46	W20	$I_2/Y_2 E' _3 G' Y' G''$
49	W20	$BG_2 KE' _2 F' O' I''/I_2$
56	W8 W16	I_2
59	W6	$E' _3 G' I''/Q' .$
61	W10 21	$Q' I''$
65	W20 26	$BO_1 I''/Q' .$
68	W8 W20	$BO_1 I''/G_2 Y_2 E' _1 Q'$

70	W6 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/I_2$
71	W6, 6.5 W20	$G_2A'D'E'_3F'Q'I''/Q'I''$
72	W8 W20	$G_1./G_2A'D'E'_3F'Q'I''$
85	W13	$G_2Y_2G'G''I''$
93	W16 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/Q'I''$
128	W6 W20	I_2/O_1I''
129	W6 W8	G_1O_1/I_2
130	W6 W8	$I_2/Q'I''$
133	W20	$BG_2KE'_2F'O'/Q'I''$
137	W6 W8	$G_2Y_2E'_1Q'/Q'I''$
141	W6 W8	$BY_2D'Q'I''/.$
145	W10 W20	I_2/Q'
156	W6 W8	I_2/Y_2A'
159	W20	$G_2A'D'E'_3F'Q'I''; I_2$
174	W6 W8	I_2
175	W8 W20	$BO_1I''/.Q'$
177	W16 W20	$I_2/$
178	W20	$I_2/I'Q'I''$
182	W16	$BO_XY_1A'E'_3G'P'Q'G''I''$
187	W20	$Q'I''$
189	W6 W8	$I_2/Q'I''$
198	W6 W20	$BG_2KO_XA'I''/Q'I''$
199	W6	$E'_3G''/Q'I''$
217	W6 W8	$BG_2KO_XA'E'_3G'P'G''I''$
		$/I_2$
234	W8 W6	BO_1I''/I_2
236	W6 W8	$G_2Y_2E'_1Q'/I''$
238	W8 W20	I_2/Q'
257	W6 W8	$Q'I''$
260	W8 W20	I_2/Q'

261	W8 W16	$G_2Y_2E'_1Q'/I_2$
262	W8 W20	$I_2/BG_2KA'I''$
263	W6,6.5 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/I_2$
264	W6 W8	BO_1I''/I_2
266	W6 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/I_2$
273	W20	$I_2D'G'/I_2$
279	W6 W8	I_2/E'_3G''
280	W6 W20	$E'_2/Q'I''$
284	W6 W8	$G_2A'D'E'_3F'Q'I''$
286	W6 W20	$BG_2KA'I''/I_2$
305	W8 W20	I_2/BP'
306	W20	I_2

Die Nachkommenanalyse des Bullen 1 ergab als lymphozytare Blutgruppe des Bullen 1 die BoLA Spezifität W6 W20.

Die erythrozytaren Blutgruppenmerkmale des B-Systems des Bullen 1 sind $I_2/Q'I''$.

Folgende Nachkommen wurden aus der Nachkommensgruppe ausgeschlossen:

<u>Tier-Nr.</u>	<u>Ausschlußursache</u>
16	Ausschluß der Vaterschaft über die erythrozytäre B-Phänogruppe.
43	Ausschluß der Vaterschaft über die erythrozytäre B-Phänogruppe.
56	Ausschluß der Vaterschaft über das BoLA-System.

59	Ausschluß der Vaterschaft über Blutgruppenmerkmale des biochemischen Polymorphismus.
61	Ausschluß der Vaterschaft über das BoLA-System.
85	Ausschluß der Vaterschaft über die erythrozytäre B-Phänogruppe.
182	Ausschluß der Vaterschaft über das BoLA-System.
261	Ausschluß der Vaterschaft über das BoLA-System.

Somit können acht Töchter aus der Nachkommengruppe des Bullen 1 nicht berücksichtigt werden. Es verbleiben dann noch 46 Töchter in der Nachkommengruppe.

Tabelle X: Nachkommengruppe des Bullen 2

<u>Tier-Nr.</u>	<u>BoLA-Spezifität</u>	<u>Erythrozytäres B-System</u>
12	W10 W16	$BG_2KO_xY_2A'O'I''/I'$
58	W8 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/Y_2E'_3G'Y'G''$
121	W8 W10	$BG_2KY_2A'O'I''$
132	W5 W10	$BO_xY_2A'E'_3G'P'Q'G''I''/BG_2KY_2A'O'I''$
134	W8 W10	$G_2Y_2E'_1Q'/G_2A'D'E'_3F'Q'I''$
147	W5 W8	$BG_2KO_xY_2A'O'I''/I_2$
148	W5 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/'$

162	W10	$BG_2KO_XY_2A'O'I''/$ $D'E'_3F'G'O'$
164	W6,6.5 W10	$BG_2KO_XY_2A'O'I''/E'_2$
166	W5 W6,6.5	$BG_2KO_XY_2A'O'I''/.$
180	W8 W10	$BG_2KO_XY_2A'O'I''/O_1Q'$
204	W10 W16	$BG_2KO_XY_2A'O'P'I''$
278	W5 W10	$BG_2KO_1Y_2D'O'I''$
287	W5 W10	$BG_2KO_XY_2A'O'I''/E'_3G''$

Das erythrozytäre B-Blutgruppensystem des Bullen 2 hat die Phanogruppen $BG_2KO_XY_2A'O'I''/G_2Y_2E'_1Q'$. Über die Analyse der Nachkommen wurde für diesen Bullen die lymphozytären Blutgruppen W5 W10 ermittelt.

Für die Tochter Nr.58 wurde die Vaterschaft der Bullen 2 über die lymphozytären Blutgruppenmerkmale ausgeschlossen. Die endgültige Nachkommengruppe des Bullen 2 umfaßt 14 Töchter.

Tabelle XI: Nachkommengruppe der Bullen 3

<u>Tier-Nr.</u>	<u>BoLA-Spezifität</u>	<u>Erythrozytäres</u> <u>B-System</u>
52	W8 W20	$O_2J'_1K'O'/BQE'_3Q'G''$
81	W10 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/BO_1Y_2D'I''$
184	W20	$Y_1E'_3G'Y'G''/E'_2$
202	W6 W20	$G_2A'E'_1Q'/Y_1E'_3G'Y'G''$
216	W20	$G_2A'E'_3Q'I''/E'_2$
220	W12 W20	BO_1B'/E'_2

244	W6,6.5 W20	$I_2/G_2Y_2E'_1Q'$
283	W6 W20	$BG_2KA'E'_3G''/I_2$
285	W5 W20	I_1/E'_2

Dem Bullen 3 wurde in seiner Bluttypenkarte das erythrozytare B-Merkmal $G_2Y_2E'_1Q'/E'_2$ zugeordnet. Die Untersuchung auf seine lymphozytaren Merkmale über die Nachkommengruppe ergab den BoLA-Typ W20 W20.

Das Rind Nr.52 muß über die erythrozytare B-Blutgruppenmerkmale als Nachkommen des Bullen 3 ausgeschlossen werden. Die Nachkommengruppe des Bullen 3 umfaßt somit acht Tochter.

Tabelle XII: Nachkommengruppe des Bullen 4

<u>Tier-Nr.</u>	<u>BoLA-Spezifität</u>	<u>Erythrozytäres B-System</u>
86	W6 W20	$BG_2KY_2E'_2F'G'I''$ $G_2Y_2E'_1Q'$
88	W16 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/G_1G_XA'$
89	W20	$Y_1E'_2G'Y'G''$
90	W20	$G_2Y_2E'_1Q'/G_X$
265	W6 W20	$G_2Y_2E'_1Q'$
288	W6 W16	$G_2Y_2E'_1Q'/B'D'$
292	W5 W16	$BG_XY_2A'E'_3I'F'Q'/$ $G_2Y_2E'_1Q'$
302	W6 W20	$G_2Y_2E'_1Q'/Q'I''$

Die Nachkommenanalyse des Bullen 4 ergab als lymphozytare Blutgruppe des Bullen 4 die BoLA Spezifität W16 W20.

Die erythrozytären Blutgruppenmerkmale des B-Systems des Bullen 4 sind $G_2Y_2E'_1Q'$ /.Die Nachkommengruppe dieses Bullen bleibt unverändert.

Zur Überprüfung von Abweichungen zwischen den einzelnen Nachkommengruppen der vier Bullen, im Hinblick auf Eutergesundheitsnote und absolute und logarithmierte Zellzahl-mittelwerte, wurden die vier Gruppen einander gegenübergestellt (siehe Tabelle XIII bis XVI).

Tabelle XIII: Nachkommengruppe Bulle eins; Zellzahlen-Mittelwerte, log. Zellzahlen und Eutergesundheitsnote

<u>Tier.Nr.</u>	<u>Zellzahl-Mittelwert</u>	<u>log.Zellzahl-Mittelwert</u>	<u>Euternote</u>
18	298	5,47	4
23	84	4,92	3
26	241	5,38	4
27	28	4,44	2
46	48	4,68	1
49	22	4,34	1
65	42	4,62	1
68	34	4,53	1
70	61	4,78	2
71	27	4,43	2
72	116	5,06	3
93	76	4,88	2

128	37	4,57	1
129	42	4,62	1
130	23	4,36	1
133	68	4,83	2
137	44	4,64	2
141	28	4,45	1
145	95	4,98	3
156	100	5,00	3
159	60	4,78	2
174	143	5,15	2
175	126	5,10	3
177	181	5,26	3
178	53	4,72	2
187	130	5,11	4
189	122	5,09	3
198	35	4,54	1
199	525	5,72	4
217	410	5,61	4
234	39	4,59	1
236	37	4,57	1
238	49	4,69	2
257	35	4,54	2
260	40	4,60	2
262	39	4,59	1
263	93	4,97	3
264	53	4,72	2
266	48	4,68	1
273	54	4,73	2
279	206	5,31	4
280	59	4,77	2
284	67	4,83	2

286	53	4,72	2
305	79	4,90	2
306	84	4,92	3

In der Nachkommengruppe des Bullen 1 wiesen 13,0% der Tiere die Eutergesundheitsnote "Vier" auf. 19,5% der Tiere besaßen die Euternote "Drei". Für die Mehrheit der Rinder dieser Gruppe (39,1%) wurden die Eutergesundheitsnote "Zwei" ermittelt. Tiere mit der Eutergesundheitsnote "Eins" waren zu 28,2% in der Nachkommengruppe vertreten.

Tabelle XIV: Nachkommengruppe Bulle 2; Zellzahlen-
Mittelwerte, log. Zellzahlen und Eutergesund-
heitsnote

<u>Tier.Nr.</u>	<u>Zellzahl- Mittelwert</u>	<u>log.Zellzahl- Mittelwert</u>	<u>Euternote</u>
12	63	4,80	2
121	89	4,95	3
132	35	4,54	1
134	53	4,72	2
147	79	4,90	2
148	56	4,81	3
162	43	4,63	1
164	258	5,41	3
166	39	4,59	1
180	58	4,76	3
204	194	5,29	3
278	47	4,67	1
287	130	5,11	3

In dieser Nachkommengruppe besaßen 46,1% der Kuhe die Eutergesundheitsnote "Drei". Tiere mit der Note "Vier" kamen in dieser Gruppe nicht vor. 23,0% der Rinder waren Träger der Eutergesundheitsnote "Zwei". 30,76% der Tiere wiesen die Eutergesundheitsnote "Eins" auf. Die hohen Prozentzahlen müssen in Verbindung mit der kleineren Gruppengröße gewertet werden.

Tabelle XV: Nachkommengruppe Bulle 3; Zellzahlen-
Mittelwerte, log. Zellzahlen und Eutergesund-
heitsnote

<u>Tier.Nr.</u>	<u>Zellzahl- Mittelwert</u>	<u>log.Zellzahl- Mittelwert</u>	<u>Euternote</u>
81	42	4,62	1
184	464	5,67	4
202	51	4,61	1
216	113	5,05	4
220	238	5,38	4
244	144	5,16	3
283	119	5,07	3
285	123	5,09	4

Die Nachkommen des Bullen 3 waren zu 50,0% Träger der Eutergesundheitsnote "Vier". Jeweils 25% der Tiere besaßen die Eutergesundheitsnote "Eins" und "Drei". Die Note "Zwei" war in dieser Gruppe nicht vertreten. Auch hier handelt es sich um eine relativ kleine Nachkommengruppe.

Tabelle XVI: Nachkommengruppe Bulle 4; Zellzahlen-
Mittelwerte, log. Zellzahlen und Eutergesund-
heitsnote

<u>Tier.Nr.</u>	<u>Zellzahl- Mittelwert</u>	<u>log.Zellzahl- Mittelwert</u>	<u>Eutergesund- note</u>
86	104	5,02	4
88	264	5,42	4
89	71	4,85	2
90	49	4,69	2
265	31	4,49	1
288	139	5,14	4
292	76	4,88	3
302	345	5,54	4

Der Prozentwert der Eutergesundheitsnote "Vier" in dieser relativ kleinen Gruppe betrug 50%. Die Note "Drei" wiesen 12,5% der Tiere auf. 25% der Kuhe besaßen die Eutergesundheitsnote "Zwei" und 12,5% die Note "Eins".

Um zu prüfen, ob zwischen den Nachkommengruppen der Bullen 1 bis 4 hinsichtlich der Eutergesundheit der Nachkommen Unterschiede bestehen, wurden in Tabelle XVII die entsprechenden Werte einander gegenübergestellt.

Tabelle XVII: Mittelwerte und Streuungen von mittlerer
Zellzahl, log.mittlerer Zellzahl und
Eutergesundheitsnote

<u>Vater</u>	<u>Bulle 1</u>		<u>Bulle 2</u>		<u>Bulle 3</u>		<u>Bulle 4</u>	
<u>n</u>	46		13		8		8	
	x	s	x	s	x	s	x	s
<u>Mittl.</u>	94	100	88	67	150	136	134	111
<u>Zell-</u>								
<u>zahl</u>								
<u>abs.</u>								
<u>x1000</u>								
<u>Mittl.</u>	4,830	0,306	4,860	0,267	5,05	0,354	5,003	0,35
<u>log.</u>								
<u>Zell-</u>								
<u>zahl</u>								
<u>Euter-</u>	2,18	0,96	2,15	0,89	2,89	1,30	3,0	1,19
<u>gesund-</u>								
<u>heits-</u>								
<u>note</u>								

Die Varianzanalyse zwischen den Bullennachkommen ergab keine Signifikanz (F-Wert 0,55). Die t-Teste zwischen den Bullen für Parameter der Eutergesundheit ergaben keine signifikanten Differenzen.

Beim Vergleich der Bullennachkommengruppen mit dem Rest der Population waren hinsichtlich der Eutergesundheitsnote für

den Bullen 1 signifikante Unterschiede zum Rest der Population vorhanden ($p < 0,001$). Diese Nachkommengruppe besitzt bessere Eutergesundheitsnoten als die Tiere, die nicht von diesem Vatertier abstammen (Tabelle XVIII).

Tabelle XVIII: Mittelwerte für Parameter der Eutergesundheit. T-Test zwischen Angehörigen und Nichtangehörigen der Bullennachkommengruppe

<u>Bullennach-</u> <u>kommengruppe</u>	<u>Bulle 1</u>		<u>Bulle 2</u>		<u>Bulle 3</u>		<u>Bulle 4</u>	
	Tochter	Rest	Tochter	Rest	Tochter	Rest	Tochter	Rest
n	46	234	13	267	8	272	8	272
abs.Zellzahl	94	121	88	118	150	115	134	116
x 1000								
Signifikanz								
Note für Euter-	2,18	2,61	2,15	2,56	2,89	2,53	3,00	2,53
gesundheit								
Signifikanz	+++							
Log. Zellzahl	4,830	4,946	4,860	4,946	5,050	4,939	5,003	4,941
Signifikanz								
t-Test	p-werte	+	p < 0,05					
		++	p < 0,01					
		+++	p < 0,001					

4.4. Lymphozytenantigene der Fleckvieh und Braunviehrinder

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die Lymphozytenantigene von 313 Rindern aus sieben staatlichen Betrieben im lymphozytotoxischen Test geprüft. Die Versuchspopulation bestand aus 228 Fleckviehrindern, 74 Braunviehrindern und 11 Gelbviehrindern. In die Auswertung gelangten 279 Tiere (89,1%). Von den 33, nicht in die Bewertung miteinbezogenen Tieren zeigten 9 Tiere (2,9%) keine Reaktionen mit den eingesetzten ALS. 23 Rinder (8,2%) wiesen drei BoLA-Spezifitäten auf. Zwei Kühe waren laut Angaben der Tierhalter als Zwillingstiere geboren und schieden deshalb aus der Bewertung aus. Nach DAM und LARSEN (1987) ist die Bestimmung der BoLA-Antigene im zytotoxischen Test bei Zwillingtieren nicht möglich.

Der zytotoxische Test wurde mit demselben Serensatz durchgeführt, der auch im Test der Tiere aus Giessen Verwendung fand.

Die Fleckviehtiere stammen von 80 Vätern ab, die Braunviehrinder von 35 Vätern. Die Tiere stehen somit in keinem engen Verwandtschaftsverhältnis. Die 11 Gelbviehrinder (Mastleistungsprüfgruppe) stammen von einem Vater ab.

Bei der Rasse Deutsches Fleckvieh konnten, außer der Spezifität 26, sämtliche BoLA-Antigene, die zu den im Test eingesetzten ALS korrespondieren, auch nachgewiesen werden. Die Population der Rasse Deutsches Braunvieh zeigte keine Reak-

tionen mit ALS, die die Spezifitäten W11, W13, 21, 26 und 32 beinhalteten. In der Gelbviehpopulation konnten aufgrund der engen Verwandtschaft der Tiere, nur die Spezifitäten W9, W11, W13, W16 und W20 nachgewiesen werden (Tabelle XIX).

Bei einem Betrieb (7) der Rasse Deutsches Fleckvieh wurden nur bestimmte Bullen eingesetzt. Diese Vatertiere waren zum größten Teil Merkmalsträger der Spezifität W16, so daß es in diesem Betrieb zu einer Anhaufung des Merkmals in der Population kam. Um einen Fehler durch diese Merkmalshäufung zu vermeiden, wurden die Genfrequenzen für die Rasse Deutsches Fleckvieh nochmals unter Ausschluß des Betriebes 7 berechnet (siehe Tabelle XXI) und dann mit den im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest ermittelten Genfrequenzen der Rasse Deutsches Fleckvieh verglichen.

Die Tiere der Gelbviehpopulation können nicht als repräsentativ für diese Rasse angesehen werden, da es sich um eng verwandte Tiere (Mastleistungsprüfgruppe) und eine relativ kleine Anzahl handelt.

Die BoLA-Spezifität W9 wurde immer zusammen mit der Untergruppe 9.1 nachgewiesen, sie war nicht von der Spezifität W9 zu unterscheiden. Möglicherweise ist bei den beiden Rassen diese Untergruppe nicht vorhanden.

Verschiedene Spezifitäten traten häufig in Kombination mit bestimmten anderen Spezifitäten auf. Die Tabelle XXII zeigt, daß auch bei den Braunvieh und Fleckviehrindern die Spezifität W7 eine signifikante Beziehung zur Spezifität W10 oder ihrer Untergruppe 10.1 aufweist.

Tabelle XIX: Prozentuale Verteilung der einzelnen Antigene in den Rassen Deutsches Fleckvieh,

Braunvieh und Gelbvieh

	<u>W2</u>	<u>W5</u>	<u>W6</u>	<u>W7</u>	<u>W8</u>	<u>W9</u>	<u>W10</u>	<u>W11</u>	<u>W12</u>	<u>W13</u>	<u>W16</u>	<u>W20</u>
Deutsches Fleckvieh	1,5	5,4	18,1	0,5	10,8	10,3	7,8	3,4	5,4	1,0	7,8	65,7
Deutsches Braunvieh	7,7	7,7	33,8	16,9	13,8	33,8	16,9	0,0	3,1	0,0	3,1	29,2
Deutsches Gelbvieh	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	0,0	10,0	0,0	20,0	10,0	20,0

Tabelle XX: Prozentuale Verteilung der Genfrequenzen der einzelnen Antigene der Rassen

Deutsches Fleckvieh, Braunvieh und Gelbvieh

	<u>W2</u>	<u>W5</u>	<u>W6</u>	<u>W7</u>	<u>W8</u>	<u>W9</u>	<u>W10</u>	<u>W11</u>	<u>W12</u>	<u>W13</u>	<u>W16</u>	<u>W20</u>
Deutsches Fleckvieh	0,007	0,027	0,095	0,002	0,055	0,055	0,039	0,017	0,027	0,005	0,039	0,414
Deutsches Braunvieh	0,039	0,039	0,186	0,088	0,071	0,186	0,088	0,0	0,015	0,0	0,015	0,158
Deutsches Gelbvieh	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	0,0	10,0	0,0	20,0	10,0	20,0

Tabelle XXI: Genfrequenzen der einzelnen Antigene Rasse Deutsches Fleckvieh (ohne Betrieb 7)

	<u>W2</u>	<u>W5</u>	<u>W6</u>	<u>W7</u>	<u>W8</u>	<u>W9</u>	<u>W10</u>	<u>W11</u>	<u>W12</u>	<u>W13</u>	<u>W16</u>	<u>W20</u>
Deutsches Fleckvieh	0,008	0,031	0,108	0,002	0,048	0,051	0,039	0,016	0,031	0,005	0,005	0,413
Deutsches Fleckvieh III. Int. BoLA-Vgl. Test	0,002	0,0	0,040	0,0	0,022	0,022	0,010	0,010	0,031	0,010	0,010	0,240

Signifikante Beziehungen für einzelne Antigene innerhalb der untersuchten Populationen der verschiedenen Rassen, ergaben sich für die BoLA-Antigene W6, W7, W13, 21 und M24. Bei Ausschluß des Betriebes 7, in dem das Merkmal W16 sehr häufig war, konnten für zwei weitere Antigene W12 und W20 signifikante F-Werte bei den einzelnen Rassen festgestellt werden (Tabellen XXII, XXIII).

Tabelle XXII: Vergleich der BoLA-Spezifitäten innerhalb der einzelnen Rassen. Nur Merkmale mit signifikanten Werten sind aufgeführt (Betriebe 1 - 7).

<u>Spezifität</u>	<u>DBV</u>	<u>DGV</u>	<u>DFV</u>	<u>F-Wert</u>	<u>Signifikanz</u>
W6	1,57a	2,00bc	2,00bc	11,65	* *
W7	1,77a	1,99bc	1,99bc	9,74	* *
W13	2,01a	1,81b	1,98bc	11,00	* *
21	1,97a	1,57b	1,87c	9,00	* *
M24	2,07a	2,11b	1,87c	5,70	* *

Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Multipler t-Test nach Tukey $p < 0,05$).

Zeichenerklärung: DBV: Deutsches Braunvieh, DGV: Deutsches Gelbvieh, DFV: Deutsches Fleckvieh.

Tabelle XXIII: Vergleich der BoLA-Spezifitäten in den einzelnen Rassen. Nur Merkmale mit signifikanten Werten sind aufgeführt (Betriebe 1 - 6)

<u>Spezifität</u>	<u>DBV</u>	<u>DGV</u>	<u>DFV</u>	<u>F-Wert</u>	<u>Signifikanz</u>
W6	1,53a	1,97bc	1,97bc	10,58	* *
W7	1,77a	1,99bc	1,99bc	8,84	* *
W12	1,91a	1,96bc	1,96bc	8,09	* *
W13	2,01a	1,81b	1,98c	9,98	* *
W20	1,34a	1,53b	1,23c	3,48	* *
21	1,97a	1,57b	1,86c	8,17	* *
M24	2,04a	2,09b	1,85c	5,17	* *

Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Multipler t-Test nach Tukey $p < 0,05$),

Zeichenerklärung: DBV: Deutsches Braunvieh, DGV: Deutsches Gelbvieh, DFV: Deutsches Fleckvieh.

Beim Merkmal W7 ergab sich eine signifikante Korrelation zu dem Merkmal W10 oder seiner Untergruppe 10.1. Auch zwischen anderen BoLA-Merkmalen bestehen signifikante Korrelationen. Dieser Umstand kann durch Kreuzreaktionen zwischen einzelnen Antigenen verursacht sein.

Tabelle XXIV: Korrelationskoeffizienten zwischen den BOLA-Merkmalen innerhalb der Betriebe 1 bis 4 bei Mastitis-positiven Tieren

<u>BOLA-Spezifität</u>	M24	W10	W6	W9
W5	0,281*	0,0	0,0	0,0
W7	0,0	0,435**	0,0	0,0
W20	0,0	0,320**	0,254*	0,268*

Pearsonsche Korrelation, Signifikanz * $p \leq 0,05$
 ** $p \leq 0,01$

4.5. Ergebnisse der Mastitisbefunde

126 Kühe (45,2%) wurden nach den vorliegenden Befunden als Mastitis-positive Rinder eingestuft. Die restlichen Tiere waren entweder Mastitis-negativ (21,9%), oder gehörten Mastleistungsprüfgruppen an (33%). Die Rinder mit den Mastitis-positiven Befunden stammen aus vier Betrieben. Der Anteil an Mastitistieren, bei den zur Blutentnahme ausgewählten Tieren, war bei diesen Betrieben vergleichbar. Sie zeigten im χ^2 -test keine signifikanten Unterschiede (Signifikanz 0,256). Tabelle XXV zeigt die Verteilung der Mastitistiere in den einzelnen Betrieben.

Tabelle XXV: Mastitis-positive Tiere in den Betrieben

<u>Betrieb</u>	<u>Anzahl der Mastitistiere</u>
Betrieb 1	33
Betrieb 2	36
Betrieb 3	22
Betrieb 4	35

Bei 12 Tieren (9,4% der Mastitistiere) wurde in einem der Befunde nur die erhöhte Zellzahl der Milch ohne einen Keimnachweis festgestellt. Diese Tiere werden als Tiere mit einer unspezifischen subklinischen Mastitis gewertet. Eines dieser Tiere wies zwei Befunde ohne Keimnachweis auf.

Sieben (5,5%) der Mastitistiere wiesen einen bakteriologischen Befund der Milch ohne eine Erhöhung der Zellzahl auf.

Bei den untersuchten Fleckviehrindern lag die Mastitisfrequenz bei 62,1% der weiblichen Fleckviehtiere. Die Brauviehkühe wiesen eine höhere Mastitisfrequenz (64,6%) auf, die aber durch die unterschiedliche Tieranzahl der beiden Rassen hervorgerufen werden kann. Die hohe Mastitisfrequenz bei beiden Rassen kommt durch die Auswahl der Testtiere nach den vorliegenden Mastitisbefunden zustande.

Die Häufigkeit der nachgewiesenen Keime bei den einzelnen Betrieben zeigt Tabelle XXVI.

Tabelle XXVI:

<u>Keimart</u>	<u>Betrieb 1</u>	<u>Betrieb 2</u>	<u>Betrieb 3</u>	<u>Betrieb 4</u>
Streptokokken	37,1%	78,6%	30,2%	52,4%
Staph.aureus	0,0%	0,0%	2,3%	0,0%
Staphylokokken	22,8%	45,2%	34,8%	45,2%
Coliforme	2,8%	4,8%	7,0%	0,0%
Mikrokokken	65,7%	69,0%	34,8%	66,6%
C.pyogenes	0,0%	0,0%	2,3%	2,4%
Hefen	2,8%	0,0%	0,0%	0,0%

Die häufigsten Erreger bei Euterentzündungen sind Staphylokokken, Streptokokken und Mikrokokken. Mikrokokken sind nach dem Beurteilungsschlüssel des Tiergesundheitsdienstes Grub Keime mit unterschiedlicher Hamolyse, keiner Beta-Hamolysinzone und mit Plasmaagglutination. In diese Gruppe werden auch die koagulasen negativen Staphylokokken eingeordnet.

In den Fleckvieh- und Braunviehbetrieben ergaben sich Unterschiede in der Frequenz der einzelnen Keimarten bei den Mastitistieren (Tabelle XXVII), die auf unterschiedliche Keimspektren in den Betrieben zurückzuführen sein durften.

Tabelle XXVII: Verteilung der Keimarten innerhalb der Fleckvieh und Braunviehbetriebe

<u>Keimart</u>	<u>Fleckviehbetriebe</u>	<u>Braunviehbetriebe</u>
Streptokokken	39,9%	78,6%
Staph.aureus	2,3%	0,0%
Staphylokokken	33,9%	45,2%
Coliforme	3,2%	4,8%

Mikrokokken	55,7%	59,5%
C.pyogenes	2,3%	0,0%
Hefen	2,8%	0,0%

Die Anzahl der Laktationen pro Tier war in den einzelnen Betrieben unterschiedlich. Bei dem Betrieb 2 war der Anteil der Tiere mit einer Laktation am größten (siehe Tabelle XXVIII). Dieser Betrieb besteht nur aus Braunviehrindern.

Tabelle XXVIII: % der Laktationen pro Betrieb

<u>Betrieb-Nr.</u>	<u>Laktationsnummer</u>				
	0	1	2	3	>3
1	0	33,2	20,0	22,8	33,2
2	0	38,1	14,3	14,3	32,3
3	7	25,6	27,9	16,3	23,2
4	0	33,3	26,2	14,3	26,2
Gesamt	1,8	31,5	22,2	16,6	27,7

Bei der Gruppe der Mastitis-positiven Tiere wiesen 25,4% eine Laktationsperiode auf. Der Anteil der Tiere mit zwei Laktationen lag bei 20,6%. Die Kühe mit drei Laktationen waren mit 19% der Mastitis-positiven Tiere vertreten. Der Prozentsatz der Rinder mit vier Laktationen betrug 19,8%. Der Anteil der Kühe, die mehr als vier Laktationen aufweisen, ist zu den vorhergehenden Werten gering (Tabelle XXIX). In den zur Untersuchung herangezogenen Betrieben waren nur wenige Kühe über sechs Jahre alt.

Tabelle XXIX: % Anteil der Mastitis-positiven und -negativen Tiere an den einzelnen Laktationen

<u>Laktation</u>	<u>% Mast.-pos. Tiere</u>	<u>% Mast.-neg.Tiere</u>
0	---	43,6
1	25,4	32,8
2	20,6	18,0
3	19,0	4,9
4	19,8	---
5	7,1	---
6	3,2	1,6
7	1,6	---
8	3,2	---

Bei sechs Tiere der Betriebe 1 - 4 lagen drei Mastitisbefunde pro Tier vor. Alle dieser Kühe hatten Laktationsnummern ≥ 3 ($\bar{x}$ 5,8 Laktationen). Bei den Tieren der Betriebe 1 - 4 wiesen 58,0% der Rinder einen Mastitisbefund auf, 22,8% besaßen zwei Mastitisbefunde und bei 3,7% der Tiere wurden drei Mastitisbefunde ermittelt.

Die einzelnen Euterviertel zeigten eine unterschiedliche Beteiligung bei der Euterentzündung. An den Hintervierteln trat bei 64,1% der Rinder der Bestände 1 - 4 eine Mastitis auf, an den Vordervierteln wurde bei 44,7% der Tiere eine Mastitis nachgewiesen. Die Beteiligung der einzelnen Viertel an der Mastitis in den Betrieben 1 - 4 zeigt Tabelle XXX.

Tabelle XXX: Prozentsatz der an Mastitis erkrankten
Viertel in den einzelnen Betrieben

<u>Viertel</u>	<u>Betrieb 1</u>	<u>Betrieb 2</u>	<u>Betrieb 3</u>	<u>Betrieb 4</u>
vorne re.	34,8	80,9	25,6	35,7
hinten re.	57,1	95,2	30,2	66,6
vorne li.	54,3	71,4	20,9	35,7
hinten li.	74,3	95,2	34,8	61,9

4.6. Zusammenhänge zwischen Mastitis und BoLA-Merkmalen

Es wurden die BoLA-Spezifitäten der Mastitis-positiven Rinder ermittelt und deren Frequenzen mit den BoLA-Merkmalshäufigkeiten der gesamten untersuchten Population bei den jeweiligen Rassen verglichen (Tabelle XXXI). Dabei wurde für das Deutsche Fleckvieh der Betrieb 7 von der Bewertung ausgeschlossen, da in diesem Betrieb eine Häufung des Merkmals W16 auftrat. Auffallende Unterschiede ergaben sich für das Merkmal W6, W9, und W12.

Tabelle XXXI: Prozentuale BoLA-Antigenfrequenzen bei Mastitis-positiven Tieren im Vergleich zur Gesamtpopulation beim Deutschen Fleckvieh

<u>Spezifität</u>	<u>Antigenfrequenz in %</u> <u>Mast.-pos.Tiere</u>	<u>Antigenfrequenz in %</u> <u>Gesamtpopulation</u>
W2	2,2	1,7
W5	5,6	6,1
W6	33,3	20,7
W7	1,1	0,5
W8	10,0	9,5
W9	2,2	10,0
W10	3,3	7,8
W11	2,2	3,3
W12	11,1	6,1
W13	1,1	1,1
W16	1,1	1,1
W20	70,0	65,9
M24	5,6	11,7
21	11,1	9,5
26	0,0	0,0
32	0,0	1,1

Für die Rasse Deutsches Braunvieh wurde derselbe Vergleich angestellt. Die Spezifitäten W9 und W10 waren bei den Mastitis-positiven Tieren wesentlich häufiger vertreten als in der gesamten Braunviehpopulation (Tabelle XXXII).

Tabelle XXXII: Prozentuale BoLA-Antigenfrequenzen bei Mastitis-positiven Tieren im Vergleich zur Gesamtpopulation beim Deutschen Braunvieh

<u>Spezifität</u>	<u>Antigenfrequenz in %</u> <u>Mastitis-pos.Tiere</u>	<u>Antigenfrequenz in %</u> <u>Gesamtpopulation</u>
W2	11,1	7,7
W5	8,3	7,7
W6	30,6	33,8
W7	13,9	16,9
W8	11,1	13,8
W9	41,7	33,8
W10	25,0	16,9
W11	0,0	0,0
W12	2,8	3,1
W13	0,0	0,0
W16	5,6	3,1
W20	25,0	29,2
M24	0,0	1,5
21	0,0	0,0
26	0,0	0,0
32	0,0	0,0

Die Frage, ob bestimmte BoLA-Merkmale innerhalb der Gruppe der Mastitis-positiven Tiere mit einer höheren oder geringeren Frequenz als in der Vergleichspopulation auftreten, wurde über ein statistisches Modell untersucht. Dabei wurde das jeweilige BoLA-Antigen als abhängige Variable festgelegt und die Einflußfaktoren als unabhängige Variablen. Für das BoLA-Merkmal 32 konnte eine signifikante Beziehungen zur Mastitis ermittelt werden (Tabelle XXXIII). Vergleicht man die Ver-

teilung der einzelnen Spezifitäten in der Gruppe der Mastitis-positiven Tiere mit der in der gesamten Population, so läßt sich auch für das Merkmal W6 ein signifikanter Bezug zur Mastitis herstellen (Tabelle XXXIV).

Tabelle XXXIII: Vergleich zwischen den BOLA-Merkmalen bei Mastitis-positiven und -negativen Tieren (Betriebe 1 bis 4)

<u>BOLA-Spezifität</u>	<u>Mastitis-positive Tiere</u>	<u>Mastitis-negative Tiere</u>	<u>F-Wert</u>	<u>Signifikanz</u>
W2	1,96	1,97	0,02	n.s.
W5	1,85	1,81	0,23	n.s.
W6	1,76	1,95	1,74	n.s.
W7	1,93	1,90	0,32	n.s.
W8	1,90	1,85	0,30	n.s.
W9	1,71	1,70	0,00	n.s.
W10	1,84	1,77	0,54	n.s.
W11	1,95	1,96	0,10	n.s.
W12	1,94	1,96	0,08	n.s.
W13	1,99	2,01	0,47	n.s.
W16	1,90	1,92	0,13	n.s.
W20	1,52	1,51	0,01	n.s.
M24	2,00	1,96	0,35	n.s.
21	1,93	2,00	0,71	n.s.
32	2,01	1,93	5,56	*

Multipler t-Test nach Tukey, $p \leq 0,05$

Signifikanz: n.s.: nicht signifikant

sig: * $p < 0,05$

Tabelle XXXIV: Vergleich zwischen den BOLA-Merkmalen bei Mastitis-positiven Tieren und der Gesamtpopulation (Deutsches Fleckvieh)

<u>BOLA-Spezifität</u>	<u>Mastitis-positive</u>	<u>Mastitis-negative</u>	<u>F-Wert</u>	<u>Signifikanz</u>
W2	1,99	1,98	0,01	n.s.
W5	1,97	1,92	0,42	n.s.
W6	1,68	1,96	5,56	*
W7	1,94	1,90	0,40	n.s.
W8	1,90	1,86	0,19	n.s.
W9	1,86	1,85	0,00	n.s.
W10	1,93	1,86	0,49	n.s.
W11	2,03	2,04	0,02	n.s.
W127	1,91	1,98	1,22	n.s.
W13	1,93	1,94	0,15	n.s.
W16	1,99	2,00	0,13	n.s.
W20	1,40	1,33	0,26	n.s.
M24	2,02	1,97	0,24	n.s.
21	1,78	1,82	0,27	n.s.
32	2,00	1,92	9,93	**

Multipler t-Test nach Tukey, $p \leq 0,05$

Signifikanz: n.s.: nicht signifikant

sig: * $p < 0,05$

sig: ** $p < 0,01$

5. Besprechung der Ergebnisse

Beim Rind wird nach den bisher vorliegenden Ergebnissen davon ausgegangen, daß das BoLA-System von einem Genort kontrolliert wird. Weitere Analysen der Resultate des III. Internationalen BoLA-Vergleichstests haben gezeigt, daß die Möglichkeit der Existenz eines zweiten Locus in Betracht gezogen werden muß. Die BoLA-Spezifität 25 wird mit diesem Locus in Verbindung gebracht.

In der vorliegenden Arbeit verfügen 41 von 622 untersuchten Rindern über mehr als zwei Spezifitäten. Bei 39 Rindern wurden drei Merkmale nachgewiesen, zwei Rinder besaßen vier Spezifitäten. Zur Erklärung bieten sich folgende Möglichkeiten an:

-Die Tiere sind Zwillingstiere und haben in ihrer embryonalen Entwicklung ein Blutkörperchenmosaik ausgebildet. Für erythrozytare Blutgruppenantigene hatte OWEN (1945) ein Blutgruppenmosaik bewiesen. Bei dizygoten Zwillingen haben DAM und LARSEN (1987) auf Schwierigkeiten bei der BoLA-Typisierung hingewiesen. Bei diesen Zwillingen sind aufgrund einer Ausbildung von Gefäßanastomosen Lymphozytenantigene beider Zwillingspartner im Blut vorhanden. Das Mischungsverhältnis beim Blutkörperchenmosaik kann bezüglich der Erythrozyten- und Lymphozytenantigene bei den Zwillingspartnern verschieden sein. Das BoLA-Testergebnis muß diesem Umstand Rechnung tragen. Je nach dem Mischungsverhältnis der Lymphozytenantigene, sind bestimmte Haplo-

typen nur durch Absorption nachweisbar. Aufgrund des Mosaiks können bis zu vier BoLA-Typen ermittelt werden.

-Das BoLA-System besitzt zwei Genorte und die vierte Spezifität wurde bis jetzt noch nicht identifiziert.

-Unter den nachgewiesenen BoLA-Spezifitäten befinden sich kreuzreaktive Antigene, die deshalb mit mehreren ALS reagieren.

Die Zwillingshäufigkeit beim Deutschen Fleckvieh beträgt nach Informationen des Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern für das Jahr 1987 3,48% aller Geburten. Für die Rasse Deutsches Braunvieh liegt der Wert bei 4,04% und für die Schwarzbunte Rasse bei 3,90%. Deshalb kann der Anteil der Rinder mit 3 und mehr BoLA-Spezifitäten nicht allein durch Zwillingstiere in der Versuchspopulation erklärt werden. Der tatsächliche Anteil an Zwillingstieren ist in der Regel höher, als von den Tierhaltern angegeben.

Zwischen bestimmten BoLA-Merkmalen bestehen signifikante Korrelationen (Tabelle XXIV). Einzelne Antigene treten häufiger miteinander auf, als andere. Die Ursachen für diese Korrelationen sind nicht bekannt.

Beim Rind wurden Kreuzreaktivitäten im BoLA-System noch nicht untersucht. Es muß aber damit gerechnet werden, daß solche Reaktionen beim Rind bestehen, da beim Menschen derartige Kreuzreaktionen im HLA-System nachgewiesen sind. COWAN et al. (1987) berichten über Kreuzreaktionen zwischen

den Allelen HLA-A11 und HLA-A3. Die beiden Allele scheinen eng verwandt zu sein. Untersuchungen der kodierenden Regionen im HLA-A11 Gene ergaben nur neun Basenunterschiede im Exon 2-8 bei beiden Genen.

Über Absorptionsversuche kann abgeklärt werden, ob Kreuzreaktionen oder gekoppelte BoLA-Antigene vorhanden sind. Beim Vorliegen einer Kreuzreaktion mußte durch vollständige Absorption, der zum Nachweis verwendeten ALS mit einem der betreffenden Antigene, die zytotoxische Reaktion dieser ALS mit dem kreuzreaktiven Merkmal fehlen. Eine Kopplung zweier BoLA-Antigene mußte über Familienuntersuchungen erforscht werden. Bei Pferd weist BAILEY (1986) auf eine mögliche Kopplung des equinen Lymphozytenantigens ELA-A10 mit einem anderen Gen des MHC hin. Er stellte fest, daß die Segregation dieses Merkmals innerhalb einer Familie signifikant vom erwarteten Wert abwich.

Von 622 getesteten Rindern reagierten 10 Tiere (1,61%) nicht mit den eingesetzten ALS. Der eingesetzte Serensatz umfaßte nicht alle bisher bekannten BoLA-Spezifitäten, diese Tiere konnten deshalb auch Merkmalsträger nicht nachgewiesener Antigene sein. Weiterhin mußte man in Betracht ziehen, daß diese Rinder bisher noch unbekannte BoLA-Antigene aufweisen. Auch im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest mit 365 ALS aus 21 Laboratorien, reagierten beispielsweise zwei Rinder aus dem Bestand der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht mit keinem der eingesetzten Antiseren.

Die Genfrequenzen der BoLA-Antigene unterscheiden sich innerhalb der einzelnen Rassen und Populationen (siehe Tabelle XXII und Tabelle XXIII). Der Nachweis einzelner BoLA-Anti-

gene hängt auch von dem Umfang der zur Verfügung stehenden Stichprobe ab, da bei kleineren Populationen sehr seltene Antigene oft nicht nachgewiesen werden können.

Die Abweichungen in den BoLA-Genfrequenzen der Versuchspopulation zu den Frequenzen im III. Internationalen Vergleichstest kann durch den Einsatz von Vatertieren hervorgerufen werden, die eine Häufung eines bestimmten Merkmals aufweisen. Zum Beispiel wurde bei drei von vier Vatertieren der Nachkommengruppen das Merkmal W20 festgestellt. Eventuell sind mit diesem Merkmal bestimmte züchterische Eigenschaften assoziiert, die zu einer Häufung dieses Antigens in der Population führen.

Die BoLA-Spezifität W2 konnte beim Schwarzbunten Rind nicht nachgewiesen werden. Auch STEAR und MACKIE (1987) stellten fest, daß bei Australischen Schwarzbunten Rindern das BoLA-Antigen W2 nicht vorhanden war.

Die Genfrequenzen der einzelnen BoLA-Merkmale sind keine konstanten Werte, sie unterliegen den züchterischen Einflüssen und verschieben sich je nach Einsatz bestimmter Rassenkreuzungen. Beim Merkmal W7 konnte ein signifikanter Korrelationskoeffizient zum Merkmal W10 ermittelt werden. Auch im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest wurden beide BoLA-Antigene oft zusammen nachgewiesen. Aber sowohl im BoLA-Vergleichstest, als auch bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Rindern, gab es Merkmalsträger, die entweder nur das eine oder das andere Antigen aufwiesen. Die Korrelationskoeffizienten, die zwischen anderen BoLA-Spezifitäten ermittelt wurden, weisen nur eine schwache Signifikanz auf.

Das Merkmal W20 hatte bei allen drei Rassen in unserer Versuchspopulation eine sehr hohe Genfrequenz. Allerdings waren drei von vier Vatertieren der untersuchten Nachkommengruppen Träger dieses Merkmals. Eine züchterische Selektion dieser BoLA-Spezifität innerhalb der Population ist nicht auszuschließen. Bei den Schwarzbunten Rindern wiesen Tiere mit der BoLA-Kombination W8 W20 signifikant niedrigere Zellzahlen in der Milch auf. Eine direkte Beziehung zwischen der Eutergesundheit und dem Antigen W20 allein, ließ sich aber bei keiner der untersuchten Rassen feststellen. ODDGEIRSSON et al. (1987) ermittelten bei islandischen Rindern eine geringere Mastitisrate bei W20 Merkmalsträgern.

Merkmalsträger des BoLA-Antigens W16 wiesen gleichzeitig auch die erythrozytäre M-Blutgruppe auf. Dies stimmt mit den in der Literatur angegebenen Ergebnissen überein (LEVEZIEL und HINES 1984, HINES et al. 1984, DAM et al. 1985). Im Immunhämolysetest der erythrozytären Merkmale war es wegen der eingesetzten Seren nicht möglich eine Aufspaltung in M_1 , M_2 und M' Merkmalsträger vorzunehmen. Wir konnten nur nachweisen, ob ein Tier im Test M-positiv oder M-negativ reagierte. Die Blutgruppenfaktoren M_1 und M' sind nicht lineare Subtypen (STORMONT 1955), daß heißt es ist entweder der Faktor M_1 oder M' nachweisbar. Es handelt sich um zwei Allele an einem Genort. Die Blutgruppenfaktoren M_1 und M_2 , sowie M' und M_2 stehen in einer linearen Untergruppenbeziehung zueinander (MILLER et al., 1962). Die Absorption eines Anti- M' -Serum mit Blut von M_2 Merkmalsträgern, entfernte die zytotoxische Aktivität aus dem Serum, dagegen hatte die Absorption des M' -Serum mit Erythrozyten des Typs M_1 keinen Einfluß auf die Zytotoxizität. Tiere die das Merkmal M' be-

sitzen sind sehr selten. Eine Beziehung zum BoLA-Antigen W16 ist aber nur bei diesem Merkmal vorhanden. In unserem Test reagierten die M-positiven Tiere alle mit den zu W16 korrespondierenden ALS. Die M-positiven Merkmalsträgern schließen die M_1 , M_2 und M' Merkmalsträger ein. Ergebnisse von HINES und ROSS (1987) weisen darauf hin, daß M_1 positive Tiere eine Determinante besitzen, die sowohl auf ihren Lymphozyten, als auch auf ihren Erythrozyten vorhanden ist. Eine ähnliche Situation besteht bei W16 positiven Rindern. Auch sie müssen eine gemeinsame Determinante auf Erythrozyten und Lymphozyten tragen. HINES et al. (1984a) stellten bei M_1 -positiven Tieren immer Reaktionen mit dem ALS OH26 fest, während M' -positive Tiere in jedem Versuch zytotoxische Reaktionen mit dem zur BoLA-Spezifität W16 korrespondierendem ALS zeigten. Für den Blutgruppenfaktor M_1 besteht wahrscheinlich ebenfalls ein "Gegenstück" im BoLA-System. M Antigene scheinen nicht als lösliche Antigene im Serum vorhanden zu sein (HINES und ROSS, 1987).

Um eine gesicherte Aussage über die Vererbung der Mastitis und ihrer Kopplung mit dem BoLA-System zu treffen, müßten bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein. Für Mastitis-positive Tiere sollte eine einheitliche Definition bestehen, die Zellzahl, nachgewiesene Keime und den dynamischen Charakter der Erkrankung mit einschließt. Das Alter und die Laktationszahl der Kuh müßten also in dieser Definition berücksichtigt werden. Ebenso besteht die Notwendigkeit eine Definition für Mastitis-negative Tiere zu erarbeiten. Erst dann sind vergleichende Untersuchungen möglich, die über den genetischen Aspekt der Mastitis Aufschluß geben können. Die einzelnen Mastitisarten sollten definiert werden. Besonders

für die subklinische Mastitis müssen einheitliche Zellzahlen in der Milch festgelegt werden. Die Tiere mit latenten Infektionen, daß heißt mit einem Keimnachweis ohne eine Zellzahlerhöhung, sollten in dieser Definition ebenso erfaßt werden, wie Tiere mit unspezifischen Mastitiden, die nur über einen höheren Zellgehalt in der Milch ausfindig gemacht werden können. In der Gruppe der Fleckvieh- und Braunviehkühe trat bei 9,4% der Tiere nur eine erhöhte Zellzahl in der Milch auf, 5,5% der Rinder zeigten eine latente Euterentzündung mit bestimmten Keimen. Gerade diese Tiere wurden über eine Mastitiskontrolle, die nur die Zellzahl in der Milch berücksichtigt, nicht erfaßt werden. Nach DIJKHUIZEN und RENKEMA (1983) gehen 60% des durch Mastitis verursachten Schadens auf subklinische Mastitiden zurück. Bei der Definition der subklinischen Mastitis sollte der Keimgehalt der Milch und die Art der vorhandenen Keime miteinbezogen werden. Nach BAKKEN und GUDDING (1982) erkrankten latent infizierte Rinder bei einer nachfolgenden klinischen Mastitis zum großen Prozentsatz wieder an denselben Keimen, die auch die latente Infektion verursachten.

Falls eine Beziehung der Mastitis zu genetischen Markern vorhanden ist, muß die Genfrequenz dieses Markers auch groß genug sein, um für die Tierzucht relevant zu sein. Der Selektionserfolg mit einem Marker sehr kleiner Genfrequenz ist für die Tierzucht bedeutungslos.

Interaktionen von Genen des bovinen Histokompatibilitätskomplex sind noch nicht erforscht. Die Immunität des Einzeltieres wird durch viele Faktoren beeinflusst, die genetisch determiniert sind. Hierzu gehören die zelluläre Immunität

und biochemische Stoffwechselabläufe. GRAML et al. (1988) erwähnen eine Beziehung zwischen Mastitisresistenz und dem Genotyp BB des Molkenproteins β -Lactoglobulin. Sie diskutieren eine Kopplung des β -Lactoglobulin-Locus mit dem Histokompatibilitätskomplex, weil eine Fülle von Eigenschaften, darunter Fruchtbarkeits- und Vitalitätskriterien, vom β -Lactoglobulin-Locus beeinflusst werden, die wahrscheinlich vom Histokompatibilitätskomplex ausgehen.

Eine Beziehung zwischen dem BoLA-Antigen W16 und der Mastitis konnte in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden. Die Genfrequenz dieses Merkmals ist bei den untersuchten Rindern kleiner als die, im III. Internationalen BoLA-Vergleichstest ermittelte Genfrequenz. Dort wurden aber wesentlich weniger Tiere der einzelnen Rassen untersucht. Bei den Schwarzbunten Rindern trat, innerhalb der 39 Merkmalsträger von W16, bei 11 Tieren (28,3%) die Eutergesundheitsnote "Vier" auf. Vergleicht man diesen Wert mit der Frequenz der Euternote "Vier" in der gesamten Population dieser Rasse (17,9%), ergibt sich ein wesentlich höherer Anteil an Tieren mit schlechter Eutergesundheitsnote bei den W16 Merkmalsträgern. Wahrscheinlich reicht, bei der geringen Genfrequenz des Merkmals, aber der Umfang der Stichprobe nicht aus, um ein statistisch signifikantes Ergebnis zu erhalten. Bei den Fleckvieh- und Braunviehrindern ergaben sich keine Unterschiede in der Verteilung des Antigens W16 bei Mastitis-positiven und -negativen Rindern. Das Ergebnis wird sicher auch dadurch beeinflusst, daß Tiere mit einer hohen Mastitisfrequenz innerhalb einer auf Leistung ausgerichteten Tierhaltung eliminiert werden, und damit in der Untersuchung nicht mehr berücksichtigt werden konnten. Bei den Rindern

des Betriebs 7 tritt das Merkmal W16 gehäuft auf, da hier die eingesetzten Bullen vermehrt W16 Merkmalsträger sind. Die Kühe werden als Mutterkuhherde gehalten. Trotz der Häufung dieses Merkmals innerhalb des Betriebes, traten bei den so gehaltenen Kühen keine Mastitisprobleme auf. Dies weist darauf hin, daß die äußeren Faktoren wie Haltung und Umwelt der Kühe eine große Rolle bei der Mastitiserkrankung spielt. Der physiologische Milchentzug durch das Kalb, ist sicher eine Hauptursache für die geringe Mastitisfrequenz bei der Mutterkuhhaltung. Das Kalb saugt öfter am Euter, der Milchentzug ist nicht, wie beim Melken auf zwei Tageszeiten limitiert. Es besteht dadurch ein stetiger Milchfluß nach außen. Die Milch wird im Euter nicht aufgestaut. Durch den Saugakt des Kalbes werden Schaden an der Zitze, wie sie durch Vakuumfehler bei Melkanlagen, oder rissige Gummibecher hervorgerufen werden, vermieden. Die Mastitisanfälligkeit bei Kühen die gemolken werden ist mehr als doppelt so hoch wie bei Kühen, die Kalber aufziehen (EVERITT und PHILLIPS, 1971). Bei der Mutterkuhhaltung kommt der Mensch mit dem Euter nicht in Berührung. Alle Faktoren die er zur Auslösung von Mastitiden beiträgt sind hier ausgeschaltet. RABOLD (1983) kommt zu dem Schluß, daß die Eutergesundheit der Kühe in gut gepflegten Herden besser ist, als in solchen mit schlechtem Pflegezustand. Er stellte eine Steigerung der Erkrankungsrate an Mastitis von 22% in schlecht gepflegten Herden fest. Wichtigster Haltungsfaktor mit dem Einfluß auf das Mastitisgeschehen ist der Mensch, der durch Fehler beim Melken, unregelmäßige Wartung und Pflege der Melkmaschinen, Vakuumfehler, etc. der Entstehung von Eutererkrankungen Vor-schub leistet. Auch DURING und ERNST (1987) stellten fest, daß bei weniger als drei Melkzeugen pro Arbeitskraft Masti-

tiden und Stoffwechselstörungen seltener auftreten. Einen linearen Zusammenhang zwischen der Anzahl Melkzeuge pro Arbeitskraft und den Mastitisfrequenzen ließen die Ergebnisse allerdings nicht erkennen.

Beim BoLA-Merkmal W6 konnte bei Fleckviehkühen eine signifikante Beziehung zur Mastitis ermittelt werden. W6 Merkmalsträger waren in der Gruppe der Mastitis-positiven Tiere wesentlich häufiger vertreten, als bei Mastitis-negativen Tieren. MEYER et al. (1984), konnten bei Schwarzbunten Rindern den Nachweis erbringen, daß Kühe mit dem BoLA-Typ W6 W13 signifikant häufiger an Sekretionsstörungen des Euters erkrankten. In der von uns durchgeführten Untersuchung traten bei den Schwarzbunten Rindern 130 Merkmalsträger des BoLA-Antigens W6 oder seiner Untergruppe 6.5 auf. Wie aus der Tabelle VII zu ersehen ist, zeigte sich bei Tieren mit schlechter Eutergesundheitsnote nur eine schwache Zunahme der Antigenfrequenz der BoLA-Spezifität W6. Die 130 Merkmalsträger beinhalten auch 25 Nachkommen des Bullen 1. Diese eng verwandten Tiere können die Stichprobe verandern, deshalb wurde die Antigenverteilung des Merkmals W6 innerhalb der vier Eutergesundheitsgruppen noch einmal ohne diese Tiere berechnet. Dadurch verschob sich die Antigenfrequenz zu steigenden Werten mit steigender Eutergesundheitsnote. Die Tiere der Gruppe mit der Eutergesundheitsnote "Eins" besaßen 38,6% W6 Merkmalsträger. Bei der Eutergesundheitsnote "Zwei" waren 35,6% der Kühe mit dem BoLA-Typ W6 vorhanden. Innerhalb der Tiere mit der Eutergesundheitsnote "Drei" wiesen 45,5% das Merkmal W6 auf, und in der Gruppe der Rinder mit der Eutergesundheitsnote "Vier" kamen 39,7% W6 Merkmalsträger vor. Faßt man die Tiere mit guter Euterge-

sundheit (Note 1 und 2) in einer Gruppe zusammen und stellt sie den Kühen mit schlechter Eutergesundheit gegenüber, ergibt sich ein höherer Prozentsatz von W6 Merkmalsträgern bei den Tieren mit schlechter Eutergesundheit (42,7%), als bei Kühen mit guter Eutergesundheit (36,6%). Außerdem muß berücksichtigt werden, daß die Milchprobenentnahme in der Farsenlaktation, die Blutentnahme aber während der dritten Laktation oder noch später erfolgte. Zu diesem Zeitpunkt sind aber bereits Tiere, die eine hohe Mastitisrate aufweisen, durch den Tierhalter aus wirtschaftlichen Gründen eliminiert worden. Die Tiere, die nach diesem Zeitraum noch übrig blieben, haben deshalb wahrscheinlich schon eine bessere Eutergesundheit. Der Einfluß des Merkmals W13 auf die von MEYER et al. (1984) nachgewiesene Beziehung der BoLA-Typ Kombination W6 W13 auf Sekretionsstörungen, dürfte gering sein, da in der vorliegenden Arbeit gleiche Antigenfrequenzen von W13 beim Schwarzbunten Rind, in den Gruppen mit guter und schlechter Eutergesundheit festgestellt wurden.

ODDGEIRSSON et al. (1987) konnten bei Islandischen Rindern eine mögliche Verbindung zwischen dem BoLA-Antigen W6 und der Mastitisanfälligkeit nachweisen.

Das BoLA-Antigen 32 wurde bei nur zwei Fleckviehkühen ermittelt. Deshalb ist die nachgewiesene Signifikanz dieses Merkmals zur Mastitis mit Vorsicht zu beurteilen. Die zwei Merkmalsträger waren Mastitis-negative Tiere. Ob sich dieses Ergebnis weiter bestätigen läßt, müßte mit einer wesentlich größeren Stichprobe abgeklärt werden.

Innerhalb der Nachkommengruppen der Schwarzbunten Rinder, konnte für die Nachkommen des Bullen 1 eine signifikant bes-

sere Euternote als für die übrigen Kühe dieser Rasse ermittelt werden. Dieser Bulle besaß die größte Anzahl von Nachkommen im Test. Auch diese Beobachtung spricht dafür, daß die Mastitis wenigstens zu einem Teil unter genetischer Kontrolle steht. Die BoLA-Merkmale W6 W20 dieses Bullen zeigten keinen Bezug zur Mastitisresistenz. Die Eutergesundheit wird durch viele Faktoren beeinflusst. Zelluläre Immunität, biochemische Stoffwechselvorgänge, Euteraufbau und die Zitzenbeschaffenheit wirken alle auch bei der Disposition zu einer Mastitis mit. Die genetische Grundlage der Mastitis wurde von verschiedenen Autoren belegt (LUSH, 1950; LEGATES und GRINNELS, 1952). MADSEN et al. (1987) bestätigte diese Ergebnisse. In Danemark erbrachte die Zucht auf Mastitisresistenz über zehn Jahre hinweg, eine Senkung der Mastitisrate in der 1. Laktation.

Die Mastitis beim Rind ist eine Erkrankung, die durch das Zusammenwirken einer genetischen Disposition des Einzeltiers mit Umweltfaktoren ausgelöst wird. Dabei scheinen die äußeren Einflüsse eine große Rolle zu spielen. Die genetische Disposition für diese Krankheit muß nicht dazu führen, daß Träger der genetischen Anlage auch an Mastitis erkranken. Das zeigt das Beispiel des Betriebes 7, in dem Merkmals-träger der BoLA-Spezifität W16 gehäuft auftraten. Trotz der mit diesem BoLA-Merkmal verbundenen Anfälligkeit für Mastitis (LARSEN et al., 1985; MADSEN et al., 1987), konnte bei keiner Kuh aus der Mutterkuhherde innerhalb eines zweijährigen Beobachtungszeitraums Anzeichen einer Mastitis festgestellt werden. Anfragen bei zwei weiteren Mutterkuhhaltern mit Herden von über 20 Kühen ergaben in Übereinstimmung mit unserer Beobachtung, daß in diesen Betrieben keinerlei

Eutererkrankungen, Nachgeburtsverhalten oder Sterilitäten auftraten. Daraus ist zu schließen, daß den Umweltfaktoren bei der Auslösung einer Mastitiserkrankung größere Bedeutung zugemessen werden sollte. In den drei Betrieben mit Mutterkuhhaltung standen die Tiere von Frühjahr bis Herbst im Freien. Die Ausläufe hatten zum Teil stark verschmutzte Boden, die nach Regenfällen morastig wurden. Trotz dieser schlechten Hygienebedingungen traten keine Eutererkrankungen auf. Die Entstehung einer Mastitis könnte daher wesentlich von der Melkhygiene und der Melktechnik beeinflußt werden. Eine Verbesserung dieser Umweltsituation kann die Mastitisrate entscheidend absenken.

Auch ein genetisch zur Mastitis nicht prädisponiertes Tier kann die Verschlechterung seiner Umweltbedingungen nur begrenzt kompensieren. Grenzen der Belastungsfähigkeit sind sicher gegeben. Eine absolute Resistenz gegen Krankheiten gibt es nicht. Tiere, die eine bestimmte Resistenz gegen Mastitis aufweisen, können für andere Erkrankungen durchaus eine erhöhte Empfänglichkeit besitzen.

Die sinnvolle Bekämpfung der Mastitis sollte die äußeren Bedingungen die eine Mastitis auslösen, einschließen.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen einer Untersuchung zur Eutergesundheit wurden 622 Rinder aus den drei Rassen Deutsches Schwarzbuntes Rind, Deutsches Fleckvieh und Deutsches Braunvieh im lymphozytotoxischen Test auf ihre Lymphozytenantigene typisiert.

98% der getesteten Rinder reagierten mit den eingesetzten lymphozytotoxischen Antilymphozytenseren. Dieses Ergebnis stellt den hohen Entwicklungsstand der Erforschung des bovinen Histokompatibilitätssystems unter Beweis.

Serogenetisch wurden bei den untersuchten Rinderpopulationen 16 BoLA-Antigene nachgewiesen. Im einzelnen handelte es sich um die BoLA-Antigene W2, W5, W6, W7, W8, W9, W10, W11, W12, W13, W16, W20, 21, 26, 32, und M24.

Bei den einzelnen Rinderrassen, sowie bei bestimmten Populationen innerhalb dieser Rassen, ergaben sich bedeutende Unterschiede im Vorkommen und der Frequenz einzelner BoLA-Antigene. Das BoLA-Merkmal W2 konnte in den untersuchten Populationen des Deutschen Schwarzbunten Rindes nicht nachgewiesen werden.

Bei der Überprüfung der Beziehungen zwischen den BoLA-Antigenen und der Eutergesundheit haben sich folgende Gesichtspunkte ergeben:

Bei den untersuchten Kühen der Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen der BoLA-Typkombination W8 W20 und einem niedrigen Zellgehalt in der

Milch festgestellt. Damit markiert diese BoLA-Typkombination die Eutergesundheit in der untersuchten Rinderpopulation.

Bei den untersuchten Rinder der Rasse Deutsches Fleckvieh wurde eine signifikante Beziehung zwischen dem BoLA-Merkmal W6 und der Mastitis festgestellt. Der BoLA-Marker W6 war bei Mastitistieren häufiger als in der gesamten Fleckviehpopulation vertreten. Damit wird ein Bezug des bovinen Histokompatibilitätssystems zu immunbiologisch bedingten Erkrankungen auch beim Rind zur Diskussion gestellt.

In Übereinstimmung mit in der Literatur berichteten Untersuchungsergebnissen, konnte bei den von uns typisierten Rindern der Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind für das BoLA-Antigen W16 die Tendenz zur Mastitisanfälligkeit ermittelt werden. Bei den uns zur Verfügung stehenden Populationen der Rassen Deutsches Fleckvieh und Deutsches Braunvieh ergaben sich derartige Zusammenhänge nicht.

Neben der Beachtung einer genetischen determinierten Mastitisdisposition, muß beim Aufbau und der Erhaltung eutergesunder Rinderbestände den Umweltbedingungen eine entscheidende Bedeutung beigemessen werden.

7. Summary

Lymphocyte antigens in cattle and the udder health

622 cattle of the three breeds German Black Pied, German Simmentaler and German Brown Swiss were typed for their lymphocyte antigens in the lymphocytotoxic test. Associations of BoLA-antigens with the udder health were investigated.

98% of the typed cattle reacted with the used antilymphocytotoxic sera. This result gives evidence of the already achieved high standard in the research of the bovine histocompatibility complex.

16 BoLA-antigens were defined serogenetically in the population tested:

W2, W5, W6, W7, W8, W9, W10, W11, W12, W13, W16, W20, 21, 26, 32, M24.

There were substantial differences in the presence and the frequencies of the BoLA-antigens in the individual breed as well as in a population within a breed. The BoLA-antigen W2 was absent in the German Black Pied cattle tested.

BoLA-antigens and the udder health showed following associations:

There was a significant association of the BoLA-type-combination W8 W20 with a low cell count in the milk of the

German Black Pied cows. Thus this BoLA-type-combination marks the udder health in the population examined.

A significant association of the BoLA-W6 with mastitis in the German Simmentaler was found. Cattle affected by mastitis showed a higher frequency of BoLA W6 than the whole population of this breed. Associations between the bovine histocompatibility complex and immunological predisposition to diseases is to be discussed.

In accordance with earlier reports in the literature an association of the BoLA-antigen W16 with mastitis in the German Black Pied was found. There had been no association between BoLA-W16 and mastitis in German Simmentaler and German Brown Swiss in the population available to us.

Apart from a genetically determined mastitis disposition also the environmental-conditions in animal husbandary have to be taken into consideration in udder health improvement.

8. Literaturverzeichnis

Ahmed, A.R., Park, M.S., Tiwari, J.L., Terasaki, P.I. (1987)
Association of DR4 with Pemphigus.
Expl.clin.Immunogenet. 4, 8 - 16.

Albert, E.D. (1973)
Die genetischen Systeme der menschlichen
Histokompatibilität: Das HLA-System.
Blut 27, 73 - 80.

Amos, D.B. (1966)
Cytotoxicity test.
Histocompatibility Testing, 151 - 159
Munksgaard, Copenhagen.

Andersson, L., Böhme, J., Peterson, P.A., Rask, L. (1986a)
Genomic hybridization of bovine class II major
histocompatibility genes: 2. Polymorphism of DR
genes and linkage disequilibrium in the DQ-DR
region.
Animal Genetics 17, 295 - 304.

Andersson, L., Böhme, J., Rask, L., Peterson, P.A. (1986b)
Genomic hybridization of bovine class II major
histocompatibility genes: 1. Extensive polymorphism
of DQ α and DQB genes.
Animal Genetics 17, 95 - 112.

Andersson, L., Lindberg, P., Sigurdardóttir, G. (1986c)

Extensive restriction fragment length polymorphism
of bovine class I genes.

Abstracts of the XXth International Conference on
Animal Blood Grps. and Biochem. Polymorphisms,
Helsinki, 28.July - 1.August 1986.

Andersson, L., Rask, L., Peterson P.A. (1986d)

DO DQ genes vary in number in different bovine MHC
haplotypes?

XXth International Conference on Animal Blood Grps.
and Biochem. Polymorphisms, Helsinki Finland,
28.July - 1.August 1986.

Bacon, L.D., Kite, J.H., Rose, N.L. (1974)

Relation between the major histocompatibility locus
and autoimmune thyroiditis in Obese chickens.
Science 186, 274 - 275.

Bailey, E. (1986)

Segregation distortion within the equine MHC:
Analogy to a mouse T/t-complex trait.
Immunogenetics 24, 225 - 229.

Bakken, G., Gudding, R. (1982)

The interdependence between clinical and
subclinical mastitis.
Acta Agriculture Scan. 32, 17 - 22.

- Baur, M.P., Danilovs, J.A. (1980)
Population analysis of HLA-A, B, C, DR and other genetic markers.
Histocompatibility testing 1980, 956 - 979.
(UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles 1980).
- Benacerraf, B., Katz, D.H. (1975)
The Histocompatibility-linked Immune Response Genes.
Adv. Cancer Res. 21, 121.
- Bernoco, D., Lewin, H.A., Howland, J. (1984)
Role of the bovine MHC in infection and transformation by bovine leukemia virus.
Proc. XIX.th International Conference on Animal Blood Grps. Biochem. Polymorphisms, Göttingen
22. - 27.1.1984, 53.
- Bertrams, J., Kuwert, E., Böhme, U., Reis, H.E., Gallmeier, W.M., Wetter, O., Schmidt, C.G. (1972)
HL-A antigens in Hodgkin's Disease and Multiple Myeloma.
Tissue Antigens 2, 41 - 46.
- Bodmer, W.F., Batchelor, J.R., Bodmer, J.G., Festenstein, H., Morris, P.J. (Eds. 1978)
Histocompatibility testing 1977, Copenhagen, Munksgaard.

Bortolozzi, J., Hines, H.C. (1982)

Histocompatibility antigens and disease resistance
in Jersey breed of cattle.

Proc. of the 2nd. World Congress on Genetics
applied to Livestock Production, Madrid, 4.10. -
8.10.1982, VII, 325 - 330.

Boyum, A. (1964)

Separation of white blood cells.
Nature 21, 793 - 794.

Boyum, A. (1974)

Separation of blood leucocytes, granulocytes and
lymphocytes.
Tissue Antigens 4, 269 - 274.

Borovska, M., Demant, P. (1967)

Specificity of cytotoxic antibodies in typing sera
against cattle blood group antigens.
Folia Biol. (Praha) 13, 473 - 475.

Brandt, L., Börjeson, J., Norden, A., Olsson, I. (1962)

Separation of lymphocytes from peripheral blood by
means of a glass wool column.
A method for in vitro culture of lymphocytes.
Acta Med. Scand. 172, 459 - 475.

Braun, W.E., Grecek, D.R., Murphy, J.J. (1972)

Expanded HLA-phenotypes of human peripheral
lymphocytes after trypsinization.
Transplantation 13, 337 - 339.

- Brewerton, D.A., Nicholls, A., Caffrey, M., Walters, D., James, D.C.O
(1973)
Acute anterior uveitis and HL-A 27.
Lancet. 1, 994.
- Bruserud, O., Paulsen, G., Markussen, G., Lundin, K., Thoresen, A.B.,
Thorsby, E. (1987)
Genomic HLA-DQ β polymorphism associated with
Insulin-Dependent Diabetes Mellitus.
Scand.J.Immunol. 25, 235 - 243.
- Byrns, G. (1985)
An approved BoLA typing procedure.
BoLA News Letter No. 1, 10 - 16.
- Caldwell, J., Cumberland, P.A., Weseli, D.F. (1977)
Serologically detected lymphocyte antigens in
Holstein cattle.
Anim.Blood Grps.biochem.Genet. 8, 197 - 207.
- Caldwell, J., Cumberland, P.A. (1978)
Cattle lymphocyte antigens.
Transplant.Proc. 10, 889 - 892.
- Cambon-Thomsen, A., Sommer, E., Demur, C., Calot, M.,
Ohayon, E. (1985)
Platelet absorption on the test tray (PATT): A
rapid method for the screening of HLA class II
antibodies using the two-colour fluorescence
method.
Tissue Antigens 26, 193 - 200.

Cichon, H.U. (1979)

Serologisch nachweisbare B-Lymphozyten spezifische
Antigene beim Rind.
Inaug.-Diss.Vet.Med., Ludwig-Maximilians-Universität
München 1979

Collins, W.M., Briles, W.E., Zsigray, R.M., Dunlop, W.R., Corbett, A.
C., Clark, K.K., Marks, J.L., McGrail, T.P. (1977)

The B locus (MHC) in the chicken: Association with
the fate of RSV-induced tumors.
Immunogenetics 5, 333 - 343.

Cowan, E.P., Jelachich, M.L., Biddison, W.E., Coligan, J.E. (1987)

DNA sequence of HLA-A11: Remarkable homology with
HLA-A3 allows identification of residues involved
in epitopes recognized by antibodies and T cells.
Immunogenetics, 25, 4, 241 - 250.

Cwik, S., Cichon, H.U., Schmid, D.O. (1979)

Serologically defined B-lymphocyte antigens in
cattle.
Proc.XVIth Int. Conf. on Anim. Blood Grps.and
Bioch. Polymorph., Leningrad, August 1979.

Dahme, E., Weiss, E. (1983)

Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der
Haussäugetiere.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.

Dam, L., Larsen, B. (1987)

BoLA-typing and blood typing of bovine dizygotic twins.

Animal Genetics 18, Suppl.1, 12 - 13.

Dam, L., Larsen, B., Østergard, H. (1985)

Relations between BoLA and M-blood groups in cattle.

Anim.Blood Grps.biochem.Genet.16 Suppl.1, 109.

Dam, L., Østergard, H. (1985)

Investigation of associations between BoLA and bovine virus diarrhoea.

Anim.Blood Grps.Biochem.Genet. 16 suppl.1, 111.

Dausset, J. (1954)

Leuco-agglutinins.

IV.Leuco-agglutinins and blood transfusion.

Vox Sang. 190 - 198.

Dausset, J. (1958)

Iso-leuco-anticorps.

Acta haemat.(Basel) 20, 156 - 166.

Dijkhuizen, A.A., Renkema, J.A. (1983)

Wirtschaftliche Bedeutung der Mastitis und ihre Bekämpfung in den Niederlanden.

Der Tierzüchter 2, 64 - 66.

- Dorn,A.R.,Moriarty,C.S.,Osborne,J.P.,Schultz,L.C.,
McCarthy,J.P.,Lister,K.A.,Horne,L.A.(1987)
A new system for mononuclear cell separation.
International Clinical Products, March/April 1987,
30 - 37.
- Dubath,M.L.,Gerber,H.,Lazary,S.(1986)
Association between susceptibility to equine
sarcoïd and ELA haplotypes in multiple-case
families.
Proc. XXth Int.Conf.on Anim.Blood Grps.and Biochem.
Polymorph., Helsinki,1986, 28.
- Duda,J.,Pirchner,F.(1987)
Genetische Beziehung zwischen Mastitisanfälligkeit
und Milchleistung.
Vortragstagung der DGFZ/GFT am 17. und 18.September
1987 in Hohenheim.
- Düring,F.,Ernst,E.(1987)
Untersuchung zur Bedeutung betriebsspezifischer
Fak-toren für Krankheitshäufigkeiten in
Milchviehherden.
Züchtungskunde 59, 327 - 328.
- Ebringer,R.W.,Cooke,D.,Cawdell,D.R.,Cowling,P.,
Ebringer,A.(1977)
Ankylosing spondylitis: Klebsiella and HLA B27.
Rheum.Rehab. 16, 190.

- Ellman, L., Green, E., Martin, J., Benacerraf, B. (1970)
Linkage between the poly-L-lysine gene and the
locus controlling the major histocompatibility
antigens in strain 2 guinea pigs.
Proc.Nat.Acad.Sci. 66, 322 - 328.
- Engelfriet, C.P., Britten, A. (1965)
The cytotoxic test for leucocyte antibodies.
Vox Sang. 10, 660 - 674.
- Eugui, E.M., Emery, D.L. (1981)
Genetically restricted cell-mediated cytotoxicity
in cattle immune to Theileria parva.
Nature 290, 251 - 254.
- Everitt, G.C., Phillips, D.S.M. (1971)
Calf rearing by multiple sucking and the effect on
lactation performance of the cow.
Proc.N.Z.Soc.Anim.Prod. 31, 22 - 40.
- Fallon, H., Frei, E., Davidson, J.D., Trier, J.S., Bruck, D. (1962)
Leucocyte preparations from human blood: evaluation
of their morphologic and metabolic state.
J.Lab.clin.Med. 59, 779 - 791.
- Folger, R.L., Hines, H.C. (1976)
Bovine lymphocyte antigens: serological
relationships with erythrocyte and spermatozoan
antigens.
Anim.Blood Grps.biochem.Genet. 7, 137 - 145.

- Fries, R., Hediger, R., Stranzinger, G. (1986)
Tentative chromosomal localization of the bovine
major histocompatibility complex by in situ
hybridisation.
Animal Genetics 17, 287 - 294.
- Gibofsky, A., Terasaki, P.J. (1972)
Trypsinization of lymphocytes for HLA-typing.
Transplantation 13, 192 - 194.
- Giles, R.C., Capra, J.D. (1985)
Biochemistry of MHC class II molecules.
Tissue antigens 25, 57 - 68.
- Götze, D. (1977)
The Major Histocompatibility System in Man and
Animals.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Graml, R., Buchberger, J., Pirchner, F. (1988)
Züchtung auf Käseereitauglichkeit der Milch?
Züchtungskunde 60, 11 - 23.
- Harris, R., Ukaejiofo, E.O. (1970)
Tissue typing using one step lymphocyte separation
procedure.
Brit.J.Haemat. 18, 229 - 235.

Hines, H.C., Ross, M.J. (1987)

Serological relationships among antigens of the
BoLA and the bovine M blood group systems.
Animal Genetics 18, 361 - 369.

Hines, H.C., Ross, M.J., Michalak, M.M., Allaire, F.R. (1985)

The association of BoLA antigens with milk
produktion and disease susceptibility differences.
Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. 16 suppl.1, 89.

Hines, H.C., Ross, M.J., Vitans, M. (1984a) ✓

The relationship of BoLA and cattle M-blood group
system.
Proc. XIX.th international conference on animal
blood grps. biochem. polymorphism, Göttingen 22. -
27.7.1984, 110.

Hruban, V., Simon, M. (1973)

Lymphocytotoxic antibodies against cattle J-
antigen.
Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 4, 183 - 184.

Hoang-Xuan, M., Charron, D., Zilber, M.-Th., Levy, D. (1982)

Biochemical characterization of class II bovine
Major Histocompatibility Complex antigens using
cross-species reaktive antibodies.
Immunogenetics 15, 621 - 624.

International Dairy Federation, (1987)

Bovine mastitis. Definition and guidelines for diagnosis.

Bulletin of the International Dairy Federation 211, 24.

Ivanyi, P. 1970.

The major histocompatibility antigens in various species.

Current Topics in Microbiology and Immunology 53, 1 - 90.

Kantor, F. S., Ojeda, A., Benacerraf, B. (1968)

Studies on artificial antigens. I. Antigenicity of DNP-poly-lysine and DNP copolymers of lysine and glutamic acid in guinea pigs.

J.exp.Med. 117, 55 - 69.

Kissmeyer-Nielsen, F., Kjerbye, K.E. (1967)

Lymphocytotoxic micro-technique purification of lymphocytes by flotation.

Histocompatibility Testing, 381 - 383.

Kissmeyer-Nielsen, F., Svejgaard, A., Freiesleben-Sorensen, S., Staub-Nielsen, L., Thorsby, E. (1970)

Mixed lymphocyte cultures and HL-A identity in unrelated subjects.

Nature, 228, 63 - 65.

Klein, J. (1975)

Biology of the mouse histocompatibility-2 complex.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Lamm, L.U., Svejgaard, A., Kissmeyer-Nielsen, P. (1971)

PGM₃: HL-A is another linkage in man.
Nature (New Biology) 231, 109 - 110.

Lanzer, G. (1986)

Das HLA-System: Eine Einführung.
Diagnostika-Dialog 3/86, Boehringer Mannheim.

Larsen, B., Jensen, N.E., Madsen, P., Nielsen, S.M.,

Klastrup, O. (1983)
Relationen zwischen Blutgruppen und Boviner
Mastitis.
Proc. der 34. Jahrestagung der EVT, Madrid,
3. - 6. Oktober 1983, 358.

Larsen, B., Jensen, N.E., Madsen, P., Nielsen, S.M., Klastrup, O.,

Madsen, P.S. (1985)
Association of the M Blood Group System with Bovine
Mastitis.
Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 16, 165 - 173.

Lazary, S., Gerber, H., De Weck, A.L., Arnold, P. (1982)

Equine leucozyte antigen system.
J. Immunogenetics 2, 327 - 334.

Leveziel,H.(1985)

The major histokompatibility complex (BoLA) and the M-blood group system in cattle: Further results.
Anim.Blood Grps.biochem.Genet. 16, Suppl.1, 77.

Leveziel,H.,Hines,H.C.(1984)

Linkage in cattle between the MHC and M-blood group system.
Genetique,Selection,Evolution 16, 405 - 416.

Lewin,H.A.,Bernoco,D.(1986)

Evidence for BoLA-linked resistance and susceptibility to subclinical progression of bovine leukaemia virus infection.
Animal Genetics 17, 197 - 207.

Lewin,H.A.,Stewart,J.A.,Wu,M.C.(1987)

Association between the bovine lymphocyte antigen (BoLA) system and subclinical progression of bovine leukaemia virus infection.
Animal Genetics 18 suppl.1, 17 - 18.

Lie,Ø(1985)

Genetic approach to mastitis control.
Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 37,
482 - 486.

Lilly, F. (1970)

Fv-2: Identification and location of a second gene governing the spleen focus response to Friend leukemia virus in mice.

J.Nat.Cancer Inst. 45, 163 - 169.

Lilly, F. (1971)

Influence of H-2 type on Gross virus leukemogenesis.

Transplant.Proc. 3, 1239 - 1241.

Madsen, P., Nielsen, Sv.M., Rasmussen, M.D., Klastrup, O., Jensen, N. E., Jensen, P.Th., Schmidt Madsen, P., Larsen, B., Hyldgaard-Jensen, J. (1987)

Undersogelser over genetisk betinget resistens mod mastitis.

Beretning fra Statens Husdyrbrugsforsog 621.

Marquardt, J. (1987)

Interferone.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 94, 219 - 221.

McDevitt, H.D., Chinitz, A. (1969)

Genetic control of antibody response. Relationship between immune response and histocompatibility (H-2) type.

Science 163, 1207 - 1208.

- McDevitt, H.O., Deak, B.D., Shreffler, D.C., Klein, J.,
Stimpfling, J.H., Snell, G.D. (1972)
Genetic control of the immune response.
J.exp.Med. 135, 1259 - 1278.
- McDevitt, H.O., Sela, M. (1965)
Genetic control of antibody response.
J.exp.Med. 122, 517 - 531.
- McGary, D.R., Stone, W.H. (1970)
Immunogenetic studies of cattle lymphocytes.
Fed.Proc. 29, 508.
- Meyer, F., Cwik, S., Erhardt, G., Schmid, D.O., Senft, B. (1984)
Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen
Lymphozytenantigenen (BoLA) und Sekretionsstörungen
beim Rind.
Züchtungskunde 56, 108 - 114.
- Mercuriali, F., Richiardi, P., Mattiuz, P.L., Sirchia, G. (1971)
AET treated lymphocytes; their use in the
lymphocytotoxicity reaction.
Tissue Antigens 1, 290 - 293.
- Miller, W.J., Braend, M., Stormont, C. (1962)
A new reagent for the M blood group system of
cattle.
Immunogenetics letter 2, 78 - 79.

- Mitscherlich, E., Hogreve, Fr., Koch, J., Scupin, E. (1966)
Untersuchungen über Beziehungen zwischen
Mastitsresistenz und Blutgruppenfaktoren beim
schwarzbunten Niederungsrind.
Dtsch.tierarztl.Wschr. 73, 97 - 102.
- Mittal, K.K., Mickey, M.R., Terasaki, P.J. (1969)
Serotyping for homotransplantation. A 45 minute
microcytotoxicity test.
Transplantation 8, 801 - 805.,
- Naito, S., Namerow, N., Mickey, M.R., Terasaki, P.I. (1972)
Multiple Sclerosis: Association with HL-A3.
Tissue Antigens 2, 1 - 4
- Oddgeirsson, O., Simpson, S.P., Ross, D., Spooner, R.L. (1987)
Relationship between the bovine MHC (BoLA) and
mastitis, cell count, ATP and antitrypsin levels in
Icelandic cattle.
Animal Genetics 18 Suppl.1, 90.
- Oliver, R.A., McCoubrey, Ch.M., Millar, P., Morgan, A.L.G., Spooner,
R.L. (1981)
A genetic study of bovine lymphocyte antigens
(BoLA) and their frequency in several breeds.
Immunogenetics 13, 127 - 132.

Østergard, H. (1987)

The influence of the MHC system in farm animals on disease resistance and fertility.

38. Jahrestagung der EVT, Lissabon, 28.9 - 1.10.1987.

Ostrand-Rosenberg, S., Stormont, C. (1974)

Bovine leucocyte antigens.

Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 5, 231 - 237.

Otto, F. (1970)

Granulozytenisolierung aus dem Blut des Menschen und der Tiere.

Blut 21, 118 - 122.

Otto, F., Schmid, D.O. (1970)

Lymphozytenisolierung aus dem Blut des Menschen und der Tiere.

Blut 21, 290 - 294.

Owen, R.D. (1945)

Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins.

Science 102, 400.

Rabin, M., Fries, S., Singer, D., Ruddle, F.H. (1985)

Assignment of the porcine major histocompatibility complex to chromosome 7 by in situ hybridisation.

Cytogenetics and Cell Genetics 39, 206 - 209.

Rabold, K. (1983)

Zum Einfluß von Haltungsfaktoren auf die Häufigkeit
von Eutererkrankungen in Milchviehherden.
Der Tierzüchter 2, 52 - 54.

Roellinger, S. (1986)

Mechanismen der Immunantwort.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 94, 221 - 222.

Rood, J.J., Van (1962)

Leucocyte grouping.
Thesis, Universität Leiden.

Rothschild, M.F., Chen, H.L., Christian, L.L., Lie, W.R., Venier, L.,
Cooper, M., Briggs, C., Warner, C.M. (1984)
Breed and swine lymphocyte antigen haplotype
differences in agglutination titers following
vaccination with B. bronchiseptica.
J. Anim. Sci. 59, 643.

Ryder, L.P., Andersen, E., Svejgaard, A. (1979)

HLA and disease registry.
Third report, Munksgaard, Copenhagen.

Sachs, D.H. (1984)

The major histocompatibility complex.
Immunogenetics, W.E. Paul, Raven Press, New York.

- Sandberg, L., Thorsby, E., Kissmeyer-Nielsen, F.,
Lindholm, A. (1970)
Evidence of a third sublocus within the HL-A
chromosomal region.
Histocompatibility Testing 1970, Munksgaard,
Kopenhagen, 165 - 169.
- Schierman, L.W., Watanabe, D.H., McBride, R.A. (1977)
Genetic control of Rous sarcoma regression in
chickens: linkage with the major histocompatibility
complex.
Immunogenetics 5, 325 - 332.
- Schmid, D.O. (1986)
Untersuchungen zur Bedeutung von Lymphozytenanti-
genen als Marker bei der Beurteilung der
Eutergesundheit beim Rind.
Neuzeitliche Methoden und Aspekte der Mastitis-
bekämpfung beim Rind. Gemeinschaftstagung des Ar-
beitskreises "Eutergesundheit" in der Fachgruppe
Milchhygiene der DVG und der Sektion Tierhygiene in
der DGfZ, 19. und 20. Juni 1986 in Grub bei München.
- Schmid, D.O., Buschmann, H.G. (1985)
Blutgruppen bei Tieren.
F. Enke Verlag, Stuttgart.
- Schmid, D.O., Cwik, S. (1972)
On leucocyte serology in pig and cattle.
Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 3, Suppl. 1, 11 - 12.

Schmid,D.O.,Cwik,S.(1973)

Über den Nachweis von Phaseolus-vulgaris-Rezeptoren
bei Lymphozyten und Granulozyten von Rind und
Schwein.

Zbl.Vet.Med.B 20, 169 - 172.

Schmid,D.O.,Otto,F.(1970)

Contribution to serology of lymphocytes in cattle
and pigs.

XIIth Europ. Conference on Animal Blood Grps.
biochem. Polymorphism, Budapest 6. - 11.7.1970,
117 - 119.

Schmid,D.O.,Rensmeyer,W.,Cwik,S.(1978)

Red cell associated antigens of the B-blood group
system on bovine and sheep lymphocyte.

Anim.Blood Grps.biochem.Genet. 9, 47 - 49.

Scholle,H.,Schlag,W.,Ruhl,H.(1972)

Vergleichende Untersuchung verschiedener Methoden
zur Isolierung peripherer menschlicher Lymphozyten.
Blut 21, 54 - 57.

Shishkov,V.P.,Slepchenko,A.R.(1986)

BoLA System and susceptibility to leukemia and
bovine leukemia virus.

XXth International Conference on Animal Blood
Grps.and Biochem. Polymorphisms,
Helsinki, July 28 - August 1,1986, 21.

Shook, E.G. (1985)

Genetic improvement in mastitis resistance through selection against somatic cell count.
Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 37,
501 - 505.

Sirchia, G., Scalamogna, M., Picci, C., Mercuriali, P. (1973)

Lymphocyte isolation and treatment with AET for routine use in the lymphocytotoxicity test.
Tissue Antigens 3, 136 - 139.

Slepchenko, A.R., Cwik, S., Shishkov, V.P., Itkin, B.Z., Vollmer, T., Schmid, D.O. (1978)

Serologically defined lymphocyte antigens in cattle.
Proc. XVI.th International Conference on Animal Blood Grps. biochem. Polymorphism, Leningrad
14. - 18.8.1978.

Snell, G.D. (1968)

The H-2 locus of the mouse: Observations and speculations concerning its comparative genetics and its polymorphism.
Folia Biol. (Praha) 14, 335 - 358.

Solbu, H. (1987)

Immunological traits in young bulls as markers of resistance to mastitis in their daughters.
J.Dairy Sci. 70, Suppl.1, 128.

Solbu, H., Spooner, R.L., Lie, O. (1982)

A possible influence of the Bovine Major
Histokompatibility Complex (BoLA) on mastitis.
Proc. 2. Weltkongreß für Genetik, SY-3-8, 368 - 371.

Splitter, G., Burkholder, J., O'Reilly, K., Janzer, A. (1987)

Anti-BoLA-W8 monoclonal antibody: production of a
tissue typing reagent after blocking monomorphic
sites on bovine mononuclear cells.
Tissue Antigens 30, 122 - 127.

Spooner, R.L., Leveziel, H., Grosclaude, F., Oliver, R.A.,
Vaiman, M.C. (1978)

Evidence for a possible major histocompatibility
complex (BoLA) in cattle.
J. Immunogenetics 5, 335 - 346.

Spooner, R.L., Millar, P., Oliver, R.A. (1979a)

The production and analysis of antilymphocyte sera
following pregnancy and skin grafting of cattle.
Anim. Blood Grps. biochem. Genet. 10, 99 - 105.

Spooner, R.L., Morgan, A.L.G. (1981)

Analysis of BoLA W6. Evidence for multiple
subgroups.
Tissue antigens 18, 178 - 188.

Spooner, R.L., Morgan, A.L.G., Oliver, R.A. (1980)

Absorption analysis of BoLA sera.
Tissue antigens 15, 289 - 296.

Spooner, R.L., Teale, A.J.

Unveröffentlichte Ergebnisse, zit. b.

Spooner, R.L., Innes, E.A., Millar, P., Simpson, S.P.,
Webster, J., Teale, A.J. (1987)

Bovine alloreactive cytotoxic cells generated in
vitro detect BoLA W6 subgroups.

Immunology 61, 85 - 91.

Stear, M.J., Brown, S.C., Dimmock, C.K., Dufty, J.H.,

Hetzl, D.J.S., Mackie, J.T., Nicholas, F.W.,

Tierney, T.J., Wetherall, J.D. (1987)

Breed Differences in the Frequency of Bovine
Lymphocyte Antigens.

Expl.clin.Immunogenet. 4, 27 - 36.

Stear, J.M., Mackie, J.T. (1987)

Joint inheritance of bovine major

histocompatibility system antigens W6 and W11.

Animal Genetics, 18, 71 - 74.

Stone, W.H., Cragle, B.G., Swanson, E.W., Brown, D.G. (1965)

Skin grafts: delayed rejection between pairs of
cattle twins showing erythrocyte chimerism.

Science 148, 1335 - 1336.

Stormont, C. (1955)

Linked genes, pseudo alleles and blood groups.

Amer. Nat. 89, 105 - 116.

Svejgaard, A., Hauge, M., Jersild, C., Platz, P., Ryder, L.P., Staub
Nielsen, L. (1979)

The HLA system. An introductory survey.

Monogr. Hum. Genet. 7, 1 - 111.

Svejgaard, A., Morling, N., Platz, P., Rydes, L.P., Thomsen, M. (1981)

HLA and disease associations with special reference
to mechanisms.

Transplant. Proc. 13, 913.

Teale, A.J., Kemp, S.J., Spooner, R.L. '

Unveröffentliche Ergebnisse, zit.b.

Spooner, R.L., Innes, E.A., Millar, P., Simpson, S.P.,

Webster, J., Teale, A.J. (1987)

Bovine alloreactive cytotoxic cells generated in
vitro detect BoLA W6 subgroups.

Immunology 61, 85 - 91.

Terasaki, P.J., McClelland, J.D. (1964)

Microdroplet assay of human serum cytotoxins.

Nature 204, 998 - 1000.

Thorsby, E., Bratlie, A. (1970)

A rapid method for preparation of pure lymphocyte
suspensions.

Histocompatibility Testing, 655 - 656, Munksgaard
Copenhagen.

Thorsby, B., Engeset, A., Lie, S.O. (1971)

HLA-A antigens and susceptibility to diseases.

Tissue Antigens 1, 147 - 152.

- Usinger, W.R., Curie-Cohen, M., Benforado, K. (1981)
The Bovine Major Histocompatibility Complex (BoLA):
Close linkage of the genes controlling
serologically defined antigens and mixed lymphocyte
reactivity.
Immunogenetics 14, 423 - 428.
- Uhlenbruck, G. (1971)
Immunbiologie.
W. Goldmann Verlag, München.
- Usinger, W.R., Curie-Cohen, M., Stone, W.H. (1977)
Lymphocyte defined loci in cattle.
Science 196, 1017 - 1018.
- Vollmer, T. (1979)
Über Lymphozytenantigene beim Rind.
Inaug. Diss. Vet. Med., . Ludwig-Maximilians-Universität
München 1979
- Wakefield, D., Easter, J., Robinson, P., Graham, D., Penny, R. (1986)
Chlamydial antibody crossreactivity with peripheral
blood mononuclear cells of patients with ankylosing
spondylitis: the role of HLA B27.
Clin. exp. Immunol. 63, 49 - 57.
- Walford, R.L., Gallagher, R., Troup, G.M. (1965)
Human lymphocyte typing with isologous antisera:
technical considerations and preliminary study of
the cytotoxic reactions system.
Transplantation 3, 387 - 401.

- Waters, H., Konrad, P., Walford, R.L. (1971)
The distribution of HL-A histocompatibility factors
and genes in patients with Systemic Lupus
erythematosus.
Tissue Antigens 1, 68 - 73.
- Wright, S., Lewis, P.A. (1921)
Factors in the resistance of guinea pigs to
tuberculosis with special regard to inbreeding and
inheritance.
Amer. Naturalist 55, 636 - 642.
- Zimmermann, K. (1987)
Einsatz von lymphozytotoxischen Seren primiparer
und multiparer Rinder zur Markierung des BoLA-
Histokompatibilitätssystems.
Inaug. Diss. Vet. Med., Ludwig-Maximilians-Universität
München, 1987.
- Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C. (1974)
Restriction of in vitro T-cell mediated
cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within
a syngenic or semi-allogenic system.
Nature 248, 701 - 702.
- Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C. (1979)
MHC restricted cytotoxic T-Cells: Studies on the
biological role of polymorphic Major
Transplantation Antigens determining T-Cell
restriction-specificity, function and responsiveness.
Adv. Immunol. 27, 221 - 292.

Abschließend möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung meiner Dissertation unterstützt haben:

Prof.Dr.Dr.h.C.mult.A.Mayr für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Institut für Blutgruppenforschung und Immunbiologie in Grub.

Prof. Dr.D.O.Schmid, der die Arbeit angeregt und durch seine stets gewährte Unterstützung wesentlich zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen hat.

Dr.S.Cwik, der mich während der gesamten Arbeit im Labor in unermüdlicher Geduld und Freundlichkeit unterstützte.

Prof.Dr.B.Senft, Dr.F.Meyer und Dr.G.Erhardt für die Entnahme und Übersendung der Blutproben und der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Prof.Dr.J.Meyer für die Bereitstellung von Rindern aus dem Tierbestand des Lehr- und Versuchsgutes in Oberschleißheim zur Blutentnahme.

Der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht und der Staatlichen Versuchsgüterverwaltung in Grub für die Möglichkeit der Blutentnahme in ihrem Bestand.

Der Staatlichen Versuchsgüterverwaltung und Lehranstalt für Tierzucht in Achselschwang für die Bereitstellung der Rinder ihres Bestandes zur Blutentnahme und den Herren Gebhard und Eckert für die Hilfe bei der Blutentnahme.

Vet.Dir.Dr.E.Wolpert vom Bayerischen Haupt- und Landgestut,
Schwaiganger für die Blutentnahme bei der Mutterkuhherde in
Achele.

Prof.W.Gedek und Dr.J.Deneke vom Tiergesundheitsdienst
Bayern, in Grub, für Informationen über Mastitisbetriebs-
untersuchungen des TGD, Bayern.

Dr. Wittmann von der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht
in Grub für statistische Auswertungen der Ergebnisse.

Herrn G.Ressel von dem LKV - Bayern für wichtige
Informationen zum aktuellen Stand der Zwillingshäufigkeit
beim Rind.

Frau H.Scheibinger, Herrn K.Müller und Herrn F.Ziegler,
sowie allen anderen Mitarbeitern des Instituts für die
ausgezeichnete technische Hilfe und ihre freundliche
Unterstützung.

Lebenslauf

26.06.57	Geboren in Nürnberg
Eltern:	Adalbert Gloger, Tierarzt Katharina Gloger, geb. Wüst
1963	Eintritt in die Gemeinschaftsschule Bad Windsheim
1967	Übertritt in das Steller Gymnasium Bad Windsheim
1976	Abitur am Steller Gymnasium Bad Windsheim
1977	Aufnahme in die staatliche Lehranstalt für technische Assistenten in der Medizin, München
1979	Staatliche Prüfung als Medizinisch- Technische Radiologieassistentin
1979 - 1980	Tätigkeit als Medizinisch-Technische Radiologieassistentin im Krankenhaus Schwabing, München
1980 - 1985	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
1986	Approbation als Tierärztin
Juli 1986	Eheschließung
Juni 1986	Beginn der vorliegenden Dissertation

